

[19]中华人民共和国国家知识产权局

[51]Int. Cl⁶

C07J 71/00

A61K 31/70

[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 97119680.X

[43]公开日 1999年4月7日

[11]公开号 CN 1212966A

[22]申请日 97.9.26 [21]申请号 97119680.X

[71]申请人 中国人民解放军军事医学科学院放射医学研究所

地址 100850 北京市太平路27号放射医学研究所

[72]发明人 马百平 董俊兴 王秉俊

[74]专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利商标事务所
代理人 唐伟杰

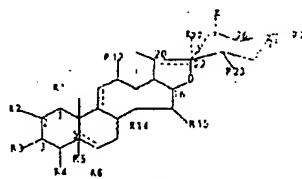
BEST AVAILABLE COPY

权利要求书 10 页 说明书 38 页 附图页数 3 页

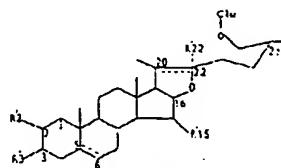
[54]发明名称 甾体皂甙防治老年性痴呆的用途及新的甾体皂甙

[57]摘要

本发明涉及式 I 甾体皂甙类化合物防治老年性痴呆的用途,新的式 II 甾体皂甙及含有所述式 I 甾体皂甙的药物组合物。



通式 I



通式 II

4 6 2 4 - 8 0 0 1 N S S I

甾体皂甙防治老年性痴呆的用途及新的甾体皂甙

本发明涉及用于防治老年性痴呆（如阿尔茨海默氏痴呆、血管性痴呆及其它类型痴呆）的甾体皂甙类化合物，新的甾体皂甙类化合物，含有它们的药物组合物。

老年性痴呆是老年人多发性疾病，是神经病学中一组原因未明的进行性精神功能衰退性疾患。其主要包括阿尔茨海默氏痴呆（Alzheimer's Disease）、血管性痴呆、混合型和其他型痴呆。据报道，国外老年性痴呆的患病率，在 65 岁以上的老人中占 3-8%，在 80 岁以上的老年人中高达 20%。最近上海与美国协作进行的老年性痴呆调查结果表明，上海地区 65 岁以上的老人中的痴呆总患病率为 4.36%。随着社会的进步，人类的寿命延长，世界各国将先后进入老龄化社会，患病人数也将大大增加。老年痴呆已成为一个亟待解决的医学和社会问题。

近年，研究开发防治老年性痴呆的药物受到广泛的重视。现在研究开发的防治老年性痴呆的药物主要为胆碱酯酶抑制剂（如四氢氨基吡啶、石杉碱甲）、血管扩张剂（如麦角溴烟酯）、钙通道阻滞剂（如尼莫地平）和神经生长因子等；虽有新药不断问世，但尚未得到理想的治疗药物。研究开发防治老年性痴呆的有效药物，将具有重大的社会意义和经济效益。

甾体皂甙是一类由螺甾烷类化合物衍生的寡糖甙。甾体皂甙在植物界分布很广泛，单子叶植物和双子叶植物中均有分布，尤以薯蓣科、百合科、玄参科、蓼科、龙舌兰科等植物中分布较普遍，如植物穿龙薯蓣（*Dioscorea nipponica* Makino）、黄山药（*Dioscorea panthaica* Prain et Burk）、大蒜（*Allium sativum* L.）、知母（*Anemarrhena asphodeloides*

11

Bge.)、重楼(*Paris polyphylla*)、玉竹(*polygonatum odoratum* (Mill) Drace)、麦冬(*Ophiopogon japonicus*)、番麻(*Agave americana* L.)等。甾体皂甙以其甙元作为合成甾体避孕药和激素类药物的原料而著名,比其直接作为药用更为重要。但某些甾体皂甙也具有抗肿瘤、降血糖、免疫调节、降胆固醇、抗菌、防治心血管疾病等活性,如中药重楼中的皂甙 I 和皂甙 IV 对 P₃₈₈、L-1210、KB 细胞有细胞毒作用;知母中伪原知母皂甙 AIII 和原知母皂甙 AIII 对四氢吡啶糖尿病模型和链脲佐菌素糖尿病模型的小鼠口服给药有降低血糖的作用;山麦冬中的皂甙可增加小鼠的免疫功能;前苏联学者发现甾体皂甙可降低胆固醇,其中螺甾皂甙比呋甾皂甙的活性强;由于甾体皂甙能与细菌细胞膜中胆固醇形成复合物而具抗菌活性;盾叶薯蓣水溶性皂甙可减轻心绞痛、调节新陈代谢,治疗冠心病有效。

本发明的目的是提供一类新的防治老年性痴呆的药物,其具有优良的疗效且副作用很低。

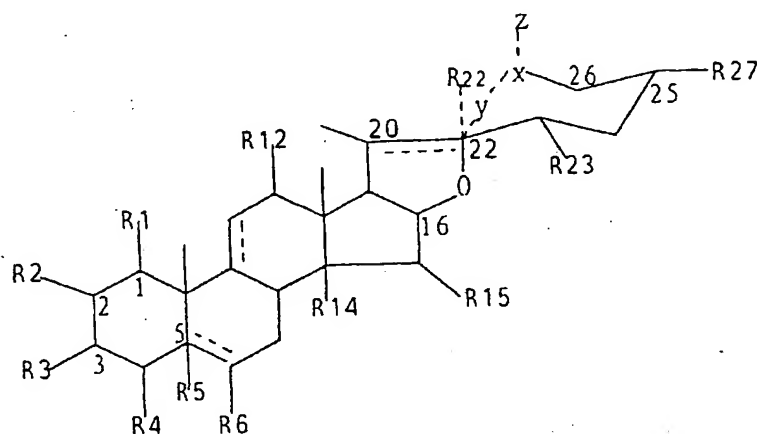
本发明人经广泛深入的研究,出人意料地发现下面式 I 所代表的甾体皂甙可以扩张脑基底动脉,改善脑循环代谢;可以明显地增加烟碱样乙酰胆碱受体(N受体)的数量;可以促进神经细胞生长;可以清除自由基。尤其是通过 SY - SY5Y 及 M10 两个细胞系的培养实验发现,本发明化合物能有效地增加 N 受体的数量,其作用强度与烟碱类似,且具有量效关系。由此该式 I 化合物可用作防治痴呆药物。本发明基于上述发现得以完成。

本发明第一方面涉及通式 (I) 甾体皂甙化合物及其立体异构体用于防治老年性痴呆

图 3 表示本发明化合物 III 对 N 受体的影响。

图 4 表示本发明化合物 III 对 N 受体的影响。

根据本发明, 本发明首先涉及通式 (I) 化合物及其立体异构体用于防治老年性痴呆,



通式 I

其中

R_1 为氢, $-OH$, $-O-\beta\text{-xyl}$, $-O\text{-Ara-Rha}$, $-O\text{-Fuc-Rha}$, $-O\text{-Ara-Rha}$,

$-O\text{-Fuc-Glu}$, $-O\text{-Fuc-xyl}$, $-O\text{-Ara-Rha}$, $O\text{-Ara-Rha}$, 或
 Ac

$-O\text{-Ara-Rha}$
 Ac Rha;

R_2 为氢, $-OH$, $-O\text{-Fuc}$, $-O\text{-Rha}$, 或 $-O\text{-Glu}$;

R_3 为 $-OH$, $-OCOCH_3$, $-OCOC_{15}H_{31}$ 或氧代 ($=O$), 或

$-O\text{-Gal}$,

$-O\text{-Glu}$,

$-O\text{-Gal-Glu}$,

$-O\text{-Glu-Glu}$,

$-O\text{-Glu-Ara}$,

$-O\text{-Fuc-Glu}$,

$-O\text{-Rha}$,

-O-Rha-Glu,
-O-Glu-Glu-Glu,

 Glu
-O-Glu-Rha ,
 Glu

-O-Glu-Rha,
-O-Man-Glu,
-O-Gal-Glu-Glu,

 Rha
-O-Glu - Glu ,

 Rha
-O-Glu - Rha ,

 Glu
-O-Glu - Glu ,

 Rha
-O-Gal - Gal ,

 xyl
-O-Glu - Ara ,

 Rha
-O-Gal - Glu ,

 Rha
-O-xyl - Rha ,

 Glu
-O-Glu - Ara ,

 Rha
-O-Glu - xyl ,

 Rha
-O-Gal - xyl ,

—O-Gal-Glu - xyl ,

—O-Gal-Glu - xyl ,

—O-Gal-Glu - Glu ,

—O-Gal-Glu - Glu ,

O-Gal-Glu - Glu ,

O-Gal-Glu - Glu-Rha ,

O-Gal-Glu - Glu ,

—O-Gal-Glu - Glu ,
|
Ac

—O-Gal-Glu - xyl-Glu ,

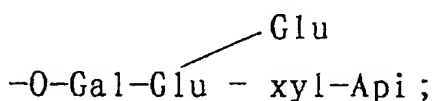
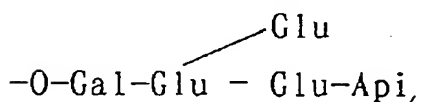
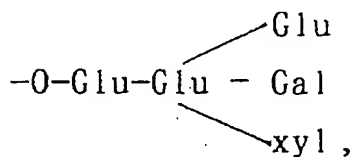
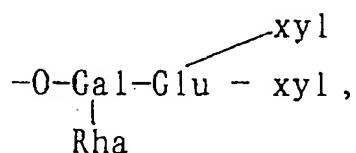
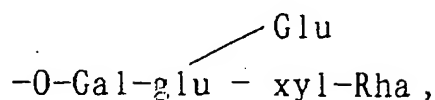
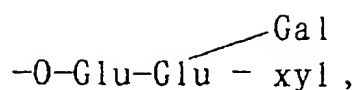
—O-Gal-Glu - Glu-Rha ,

—O-Gal-Glu - Glu-Glu ,

—O-Gal-Glu-Gal ,

—O-Glu - Rha ,

—O-Gal - Glu-Glu ,



R_4 为氢, $-\text{OH}$, 或 $-\text{OSO}_3\text{Na}$,

R_5 为氢, 羟基, $-\text{O}-\text{Glu}$, 或不存在

R_6 为氢, OH , 氧代($=\text{O}$), $-\text{O}-\text{Qui}-\text{Rha}$, 或 $-\text{O}-\text{Qui}-\text{xyl}$;

R_{12} 为氢, $-\text{OH}$, 或氧代($=\text{O}$);

R_{14} 为氢, 或 $-\text{OH}$;

R_{15} 为氢, 或 $-\text{OH}$;

R_{22} 为 $-\text{OH}$, 或 $\text{O}(\text{CH}_2)_n\text{CH}_3$, $n=0-3$, 或不存在;

R_{23} 为氢或 $-\text{OH}$;

R_{27} 为 $-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{OH}$, 或 $=\text{CH}_2$;

X 为 O 或 NH ;

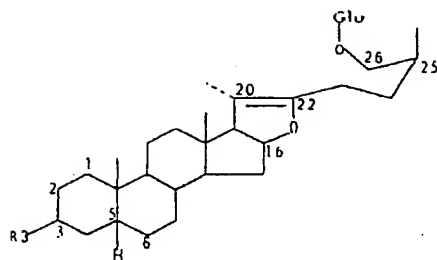
Y 为一根直键或不存在,

Z 为 Glu 或不存在;

\cdots 表示单键或双键;

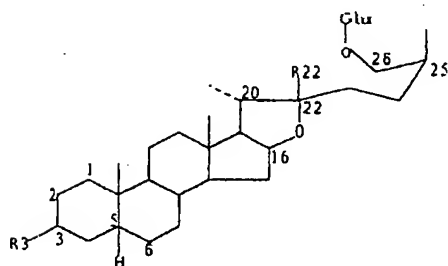
条件为不包括 $R_1=R_2=R_4=R_6=R_{12}=R_{14}=R_{15}=R_{23}=\text{H}$, R_3 为 $\beta\text{-OH}$, R_5 为 $\beta\text{-H}$, $X=\text{O}$, Y 为一直键, R_{22} 不存在, Z 不存在, R_{27} 为 $-\text{CH}_3$, \cdots 为单键, C_{25} 为 S 构型的式 I 化合物。

根据本发明, 本发明再一方面涉及的是通式 (II) 化合物



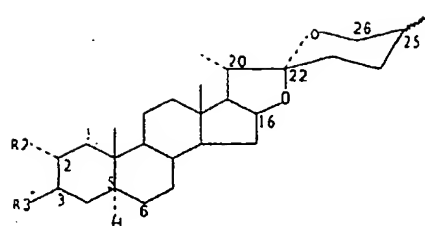
I: $R_3 = O - C_{H1}^2 - Glu$

II: $R_3 = O - C_{H2}^2 - Glu$



III: $R_3 = O - C_{H1}^2 - Glu, R_{22} = OH$

IV: $R_3 = O - C_{H1}^2 - Glu, R_{22} = OCH_3$

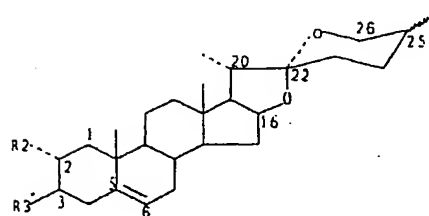


Va: $25R, R_2 = H$

Vb: $25S, R_2 = H$

Va: $25R, R_2 = OH$

Vb: $25S, R_2 = OH$



VIa: $25R, R_2 = H$

VIb: $25S, R_2 = H$

VIa: $25R, R_2 = OH$

VIb: $25S, R_2 = OH$

$R_3 = O - C_{H1}^2 - C_{H2}^2 - Glu$
Xyl

实施例 II

知母 2Kg, 水煮提取 4 次, 提取液减压浓缩为流浸膏, 加乙醇至含醇 75 %, 静置沉淀。上清液减压回收乙醇, 再用 n-BuOH 萃取, 减压回收 n-BuOH, 得干浸膏 550g。n-BuOH 萃取物进行反复硅胶柱层析, 以 $CHCl_3$ -MeOH- H_2O 溶剂系统洗脱, TLC 检查合并含化合物 III 的流份。此流份用 Sephadex LH-20 进行多次纯化, 得化合物 III 7.1g。

二. 结构鉴定:

化合物 I 白色无定形粉末, $mp > 226^\circ C$ (dec)。Liebermann-Burchard 反应和 Molish 反应呈阳性, 对 Ehrlich 试剂亦呈阳性反应。IR (漫反射) cm^{-1} : 3368 (OH), 2925, 1692 (Δ 20, 22), 1075, 1039 (醚键 C-O)。 1H -NMR (C_5D_5N) δ : 0.66 (3H, S, 18- CH_3), 0.96 (3H, S,

$J=7.8\text{Hz}$, Glc 1-H), 4.90 (1H, d, $J=7.8\text{Hz}$, Gal 1-H), 5.27 (1H, d, $J=7.8\text{Hz}$, Glc 1-H). $^{13}\text{C-NMR}$ 谱数据见表 1。化合物 III 为 (25S)-26-O- β -D-葡萄糖吡喃糖基-22-羟基-5 β -呋甾-3 β 、26-二醇-3-O- β -D-葡萄糖吡喃糖基(1 \rightarrow 2)- β -D-半乳吡喃糖甙 (prototimosaponin AIII)。

化合物 IV 白色无定形粉末, mp 244 $^{\circ}\text{C}$ 。Liebermann-Burchard 反应和 Molish 反应呈阳性, 对 Ehrlich 试剂亦呈阳性反应。FAB-MS m/z 957 ($\text{M}+\text{Na}$) $^{+}$, 933 ($\text{M}-\text{H}$) $^{+}$, 903 ($\text{M}+\text{H}-\text{MeOH}$) $^{+}$, 741 ($\text{M}+\text{H}-\text{MeOH}-\text{Glc}$) $^{+}$, 579 ($\text{M}+\text{H}-\text{MeOH}-\text{Glc} \times 2$) $^{+}$, 417 ($\text{M}+\text{H}-\text{MeOH}-\text{Glc} \times 2-\text{Gal}$) $^{+}$, 399 (甙元 + $\text{H}-\text{MeOH}-\text{H}_2\text{O}$) $^{+}$ 。 $^1\text{H-NMR}$ ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 0.78 (3H, s, 18- CH_3), 0.95 (3H, s, 19- CH_3), 1.03 (3H, d, $J=6.0\text{Hz}$, 27- CH_3), 1.16 (3H, d, $J=6.6\text{Hz}$, 21- CH_3), 3.25 (3H, s, 22- OCH_3), 4.82 (1H, d, $J=7.7\text{Hz}$, Glc 1-H), 4.90 (1H, d, $J=7.1\text{Hz}$, Gal 1-H), 5.27 (1H, d, $J=7.7\text{Hz}$, Glc 1-H)。 $^{13}\text{C-NMR}$ 谱数据见表 1。化合物 IV 为 (25S)-26-O- β -D-葡萄糖吡喃糖基-22-甲氧基-5 β -呋甾-3 β 、26-二醇-3-O- β -D-葡萄糖吡喃糖基(1 \rightarrow 2)- β -D-半乳吡喃糖甙 (知母皂甙 E)。

物质 V 白色无定形粉末, mp 271 $^{\circ}\text{C}$ (dec)。Liebermann-Burchard 反应和 Molish 反应呈阳性, 对 Ehrlich 试剂呈阴性反应。IR ν_{max} cm^{-1} : 3394, 2930, 1070, 988, 919, 896, 847。FAB-MS (positive) m/z 1057 ($\text{M}+\text{Na}$) $^{+}$, 2930, 1070, 988, 919, 896, 847。FAB-MS (positive) m/z 1057 ($\text{M}+\text{Na}$) $^{+}$, 1035 ($\text{M}+\text{H}$) $^{+}$, 925 ($\text{M}-\text{Xyl}+\text{Na}$) $^{+}$, 901 ($\text{M}-\text{Xyl}-\text{H}$) $^{+}$, 873 ($\text{M}-\text{Glc}+\text{H}$) $^{+}$, 741 ($\text{M}-\text{Glc}-\text{Xyl}+\text{H}$) $^{+}$, 579 ($\text{M}-\text{Xyl}-\text{Glc} \times 2+\text{H}$) $^{+}$, 417 (aglycone + H) $^{+}$, 399 (aglycone- $\text{H}_2\text{O}+\text{H}$) $^{+}$ 。EI-MS m/z 416 (aglycone) $^{+}$, 398 (aglycone- H_2O) $^{+}$, 357, 347, 344, 302, 287, 273, 181, 139。

V_a : $^1\text{H-NMR}$ ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 0.80 (s, C-18 CH_3), 0.60 (s, C-19 CH_3), 1.12 (d, $J=6.7\text{Hz}$, C-21 CH_3), 0.67 (d, $J=5.5\text{Hz}$, C-27 CH_3), 4.86 (d, $J=7.3\text{Hz}$, Gal 1-H), 5.17 (d, $J=7.9\text{Hz}$, Glc (inner) 1-H), 5.21 (d, $J=7.9\text{Hz}$, Xyl 1-H), 5.55 (d, $J=7.3\text{Hz}$, Glc (terminal) 1-H)。 $^{13}\text{C-NMR}$ 谱数据见表 2。化合物 V_a 为替告皂甙元-3-O- β -D-吡喃葡萄糖基(1 \rightarrow 2)[β -D-吡喃木糖基(1 \rightarrow 3)]- β -D-吡喃葡萄糖基(1 \rightarrow 4)- β -D-吡喃半乳糖甙 (degallactotigonin)。

Vb: $^1\text{H-NMR}$ ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 0.79 (s, C-18 CH_3), 0.60 (s, C-19 CH_3), 1.12 (d, $J=6.7\text{Hz}$, C-21 CH_3), 1.05 (d, $J=7.3\text{Hz}$, C-27 CH_3), 4.86 (d, $J=7.3\text{Hz}$, Gal 1-H), 5.17 (d, $J=7.9\text{Hz}$, Glc(inner) 1-H) 5.21 (d, $J=7.9\text{Hz}$ Xyl 1-H), 5.55 (d, $J=7.3\text{Hz}$, Glc(terminal) 1-H). $^{13}\text{C-NMR}$ 谱数据见表 2。化合物 Vb 为新替告皂甙元-3-0- β -D-吡喃葡萄糖基(1 \rightarrow 2)[β -D-吡喃木糖基(1 \rightarrow 3)]- β -D-吡喃葡萄糖基(1 \rightarrow 4)- β -D-吡喃半乳糖甙(diuranthoside A)。

物质 VI 白色无定形粉末, mp 247 $^{\circ}\text{C}$ (dec). Liebermann-Burchard 反应和 Molish 反应呈阳性, 对 Ehrlich 试剂呈阴性反应。IR $_{\text{max}}$ cm^{-1} : 3408, 2931, 2875, 1072, 987, 922, 897, 847. FAB-MS (positive) m/z 1073 ($\text{M}+\text{Na}$) $^{+}$, 1051 ($\text{M}+\text{H}$) $^{+}$, 595 ($\text{M-Xyl-Glc} \times 2+\text{H}$) $^{+}$, 433 (aglycone+ H) $^{+}$, 415 (aglycone - $\text{H}_2\text{O}+\text{H}$) $^{+}$. EI-MS m/z 432 (aglycone) $^{+}$, 415 (aglycone- $\text{H}_2\text{O}+\text{H}$) $^{+}$, 414 (aglycone- H_2O) $^{+}$, 373, 363, 360, 342, 318, 303, 300, 289, 271, 139, 126, 115.

VIa: $^1\text{H-NMR}$ ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 0.78 (s, C-18 CH_3), 0.67 (s, C-19 CH_3), 1.10 (d, $J=6.6\text{Hz}$, C-21 CH_3), 0.67 (C-27 CH_3), 4.90 (d, $J=7.7\text{Hz}$, Gal 1-H), 5.20 (d, $J=7.7\text{Hz}$, Glc(inner) 1-H), 5.23 (d, $J=7.7\text{Hz}$ Xyl 1-H), 5.57 (d, $J=7.7\text{Hz}$, Glc(terminal) 1-H). $^{13}\text{C-NMR}$ 谱数据见表 2。化合物 VI a 为支脱皂甙元-3-0- β -D-吡喃葡萄糖基(1 \rightarrow 2)[β -D-吡喃木糖基(1 \rightarrow 3)]- β -D-吡喃葡萄糖基(1 \rightarrow 4)- β -D-吡喃半乳糖基(F-gitonin)。

VIb: $^1\text{H-NMR}$ ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 0.77 (s, C-18 CH_3), 0.67 (s, C-19 CH_3), 1.10 (d, $J=6.6\text{Hz}$, C-21 CH_3), 1.05 (d, $J=7.1\text{Hz}$, C-27 CH_3), 4.90 (d, $J=7.7\text{Hz}$, Gal 1-H), 5.20 (d, $J=7.7\text{Hz}$, Glc(inner) 1-H), 5.23 (d, $J=7.7\text{Hz}$ Xyl 1-H), 5.57 (d, $J=7.7\text{Hz}$, Glc(terminal) 1-H). $^{13}\text{C-NMR}$ 谱数据见表 2。化合物 VI b 为新支脱皂甙元-3-0- β -D-吡喃葡萄糖基(1 \rightarrow 2)[β -D-吡喃木糖基(1 \rightarrow 3)]- β -D-吡喃葡萄糖基(1 \rightarrow 4)- β -D-吡喃半乳糖甙(知母皂甙 F)。

物质 VII 白色无定形粉末, mp 242 $^{\circ}\text{C}$. Liebermann-Burchard 反应

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁶

C07J 71/00

A61K 31/70

[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 97119680.X

[43] 公开日 1999 年 4 月 7 日

[11] 公开号 CN 1212966A

[22] 申请日 97.9.26 [21] 申请号 97119680.X

[71] 申请人 中国人民解放军军事医学科学院放射医学研究所

地址 100850 北京市太平路 27 号放射医学研究所

[72] 发明人 马百平 董俊兴 王秉俊

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利商标事务所

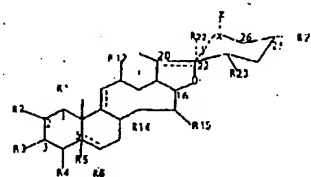
代理人 唐伟杰

权利要求书 10 页 说明书 38 页 附图页数 3 页

[54] 发明名称 甾体皂甙防治老年性痴呆的用途及新的甾体皂甙

[57] 摘要

本发明涉及式 I 甾体皂甙类化合物防治老年性痴呆用途, 新的式 II 甾体皂甙及含有所述式 I 甾体皂甙的药物组合物。



(25R)-26-0- β -D-吡喃葡萄糖基-22-羟基-5-烯-呋甾-3 β 、26-二醇-3-0- α -L-吡喃鼠李糖基(1 \rightarrow 2)- β -D-吡喃葡萄糖甙。

(25S)-26-0- β -D-吡喃葡萄糖基-5 β -呋甾-20(22)-烯-3 β 、26-二醇-3-0- β -D-吡喃葡萄糖基(1 \rightarrow 2)- β -D-吡喃半乳糖甙。

18. 权利要求2的化合物，其选自：

(25S)-26-0- β -D-吡喃葡萄糖基-22-羟基-5 β -呋甾-2 β 、3 β 、26-三醇-3-0- β -D-吡喃葡萄糖基(1 \rightarrow 2)- β -D-吡喃半乳糖甙；

(25S)-26-0- β -D-吡喃葡萄糖基-22-甲氧基-5 β -呋甾-2 β 、3 β 、26-三醇-3-0- β -D-吡喃葡萄糖基(1 \rightarrow 2)- β -D-吡喃半乳糖甙；

(25S)-26-0- β -D-吡喃葡萄糖基-5 β -呋甾-20(22)-烯-2 β 、3 β 、26-三醇-3-0- β -D-吡喃葡萄糖基(1 \rightarrow 2)- β -D-吡喃半乳糖甙；

(25R)-26-0- β -D-吡喃葡萄糖基-22-羟基-5-烯-呋甾-3 β 、26-二醇-3-0- β -D-吡喃葡萄糖基(1 \rightarrow 4)- β -D-吡喃半乳糖甙；

(25R)-26-0- β -D-吡喃葡萄糖基-22-甲氧基-5-烯-呋甾-3 β 、26-二醇-3-0- β -D-吡喃葡萄糖基(1 \rightarrow 4)- β -D-吡喃半乳糖甙；

(25R)-26-0- β -D-吡喃葡萄糖基-5-烯-呋甾-20(22)-烯-3 β 、26-二醇-3-0- β -D-吡喃葡萄糖基(1 \rightarrow 4)- β -D-吡喃半乳糖甙。

19. 防治老年痴呆的方法，其包括给需要的人类给予防治有效量的式I化合物或其立体异构体或权利要求15的药物组合物。

20. 权利要求1的用途，其中老年性痴呆是阿尔茨海默氏病、血管性痴呆、混合型或其它型痴呆。

甾体皂甙防治老年性痴呆的用途及新的甾体皂甙

本发明涉及用于防治老年性痴呆（如阿尔茨海默氏痴呆、血管性痴呆及其它类型痴呆）的甾体皂甙类化合物，新的甾体皂甙类化合物，含有它们的药物组合物。

老年性痴呆是老年人多发性疾病，是神经病学中一组原因未明的进行性精神功能衰退性疾患。其主要包括阿尔茨海默氏痴呆（Alzheimer's Disease）、血管性痴呆、混合型和其他型痴呆。据报道，国外老年性痴呆的患病率，在65岁以上的老人中占3-8%，在80岁以上的老年人中高达20%。最近上海与美国协作进行的老年性痴呆调查结果表明，上海地区65岁以上的老人中的痴呆总患病率为4.36%。随着社会的进步，人类的寿命延长，世界各国将先后进入老龄化社会，患病人数也将大大增加。老年痴呆已成为一个亟待解决的医学和社会问题。

近年，研究开发防治老年性痴呆的药物受到广泛的重视。现在研究开发的防治老年性痴呆的药物主要为胆碱酯酶抑制剂（如四氢氨基吡啶、石杉碱甲）、血管扩张剂（如麦角溴烟酯）、钙通道阻滞剂（如尼莫地平）和神经生长因子等；虽有新药不断问世，但尚未得到理想的治疗药物。研究开发防治老年性痴呆的有效药物，将具有重大的社会意义和经济效益。

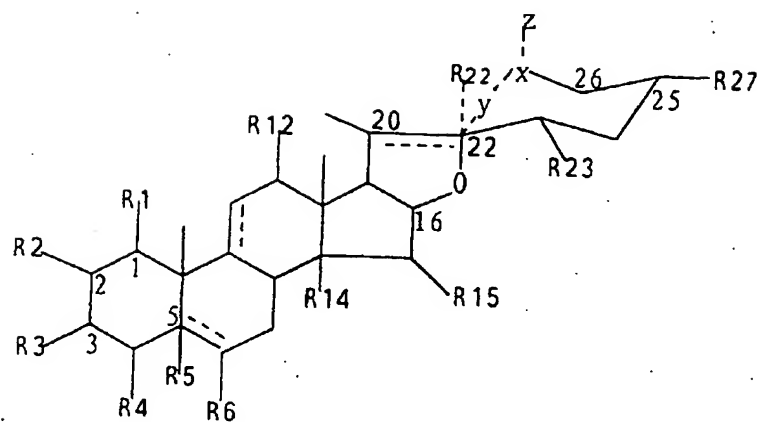
甾体皂甙是一类由螺甾烷类化合物衍生的寡糖甙。甾体皂甙在植物界分布很广泛，单子叶植物和双子叶植物中均有分布，尤以薯蓣科、百合科、玄参科、蓼科、龙舌兰科等植物中分布较普遍，如植物穿龙薯蓣（*Dioscorea nipponica* Makino）、黄山药（*Dioscorea panthaica* Prain et Burk）、大蒜（*Allium sativum* L.）、知母（*Anemarrhena asphodeloides*

Bge.)、重楼(*Paris polyphylla*)、玉竹(*polygonatum odoratum* (Mill) Drace)、麦冬(*Ophiopogon japonicus*)、番麻(*Agave americana* L.)等。甾体皂甙以其甾元作为合成甾体避孕药和激素类药物的原料而著名,比其直接作为药用更为重要。但某些甾体皂甙也具有抗肿瘤、降血糖、免疫调节、降胆固醇、抗菌、防治心血管疾病等活性,如中药重楼中的皂甙 I 和皂甙 IV 对 P₃₈₈、L-1210、KB 细胞有细胞毒作用;知母中伪原知母皂甙 AIII 和原知母皂甙 AIII 对四氢吡啶糖尿病模型和链脲佐菌素糖尿病模型的小鼠口服给药有降低血糖的作用;山麦冬中的皂甙可增加小鼠的免疫功能;前苏联学者发现甾体皂甙可降低胆固醇,其中螺甾皂甙比呋甾皂甙的活性强;由于甾体皂甙能与细菌细胞膜中胆固醇形成复合物而具抗菌活性;盾叶薯蓣水溶性皂甙可减轻心绞痛、调节新陈代谢,治疗冠心病有效。

本发明的目的是提供一类新的防治老年性痴呆的药物,其具有优良的疗效且副作用很低。

本发明人经广泛深入的研究,出人意料地发现下面式 I 所代表的甾体皂甙可以扩张脑基底动脉,改善脑循环代谢;可以明显地增加烟碱样乙酰胆碱受体(N受体)的数量;可以促进神经细胞生长;可以清除自由基。尤其是通过 SY - SY5Y 及 M10 两个细胞系的培养实验发现,本发明化合物能有效地增加 N 受体的数量,其作用强度与烟碱类似,且具有量效关系。由此该式 I 化合物可用作防治痴呆药物。本发明基于上述发现得以完成。

本发明第一方面涉及通式 (I) 甾体皂甙化合物及其立体异构体用于防治老年性痴呆



其中

通式 I

R_1 为氢, $-OH$, $-O-Xyl$, $-O-Ara-Rha$, $-O-Fuc-Rha$, $-O-Ara-Rha$,

$-O-Fuc-Glu$, $-O-Fuc-Xyl$, $-O-Ara-Rha$, $O-Ara-Rha$, 或
 $\begin{array}{c} Rha \\ | \\ O-Ara-Rha \\ | \\ Ac \end{array}$

$-O-Ara-Rha$
 $\begin{array}{c} Rha \\ | \\ Ac \end{array}$

R_2 为氢, $-OH$, $-O-Fuc$, $-O-Rha$, 或 $-O-Glu$;

R_3 为 $-OH$, $-OCOCH_3$, $-OCOC_{15}H_{31}$, 或氧代($=O$), 或

$-O-Gal$

$-O-Glu$,

$-O-Gal-Glu$,

$-O-Glu-Glu$,

$-O-Glu-Ara$,

$-O-Fuc-Glu$,

$-O-Rha$,

$-O-Rha-Glu$,

$-O-Glu-Glu-Glu$,

$-O-Glu$

$-O-Glu-Rha$

$-O-Glu$,

$-O-Glu-Rha$,

-O-Man-Glu,
 -O-Gal-Glu-Glu,
 Rha
 -O-Glu - Glu ,
 Rha
 -O-Glu - Rha ,
 Glu
 -O-Glu - Glu ,
 Rha
 -O-Gal - Gal ,
 xyl
 -O-Glu - Ara ,
 Rha
 -O-Gal - Glu ,
 Rha
 -O-xyl - Rha ,
 Glu
 -O-Glu - Ara ,
 Rha
 -O-Glu - xyl ,
 Rha
 -O-Gal - xyl ,
 Glu
 -O-Gal-Glu - xyl ,
 Gal
 -O-Gal-Glu - Xyl ,
 Glu
 -O-Gal-Glu - Glu ,
 xyl-Rha
 -O-Gal-Glu - Glu ,

$\begin{array}{c} \text{---xyl-xyl} \\ \text{O-Gal-Glu - Glu ,} \end{array}$

$\begin{array}{c} \text{---Glu} \\ \text{O-Gal-Glu - Glu-Rha ,} \end{array}$

$\begin{array}{c} \text{---Glu-Ac} \\ \text{O-Gal-Glu - Glu ,} \end{array}$

$\begin{array}{c} \text{---Glu} \\ \text{-O-Gal-Glu - Glu} \\ \text{Ac} \end{array} ,$

$\begin{array}{c} \text{---Glu} \\ \text{-O-Gal-Glu - xyl-Glu ,} \end{array}$

$\begin{array}{c} \text{---Glu-Rha} \\ \text{-O-Gal-Glu - Glu-xyl ,} \end{array}$

$\begin{array}{c} \text{---Glu-Glu} \\ \text{-O-Gal-Glu - xyl-Glu ,} \end{array}$

-O-Gal-Glu-Gal ,

$\begin{array}{c} \text{---Api} \\ \text{-O-Glu - Rha ,} \end{array}$

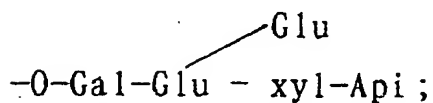
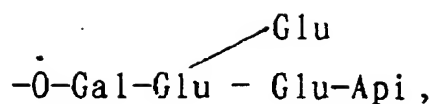
$\begin{array}{c} \text{---Rha} \\ \text{-O-Gal - Glu-Glu ,} \end{array}$

$\begin{array}{c} \text{---Gal} \\ \text{-O-Glu-Glu - xyl ,} \end{array}$

$\begin{array}{c} \text{---Glu} \\ \text{-O-Gal-Glu - xyl-Rha ,} \end{array}$

$\begin{array}{c} \text{---xyl} \\ \text{-O-Gal-Glu - xyl ,} \\ \text{Rha} \end{array}$

$\begin{array}{c} \text{---Glu} \\ \text{-O-Glu-Glu - Gal} \\ \text{---xyl ,} \end{array}$



R_4 为氢, $-\text{OH}$, 或 $-\text{OSO}_3\text{Na}$,

R_5 为氢, 羟基, $-\text{O}-\text{Glu}$, 或不存在,

R_6 为氢, OH , 氧代($=\text{O}$), $-\text{O}-\text{Qui}-\text{Rha}$, 或 $-\text{O}-\text{Qui}-\text{Xyl}$;

R_{12} 为氢, $-\text{OH}$, 或氧代($=\text{O}$);

R_{14} 为氢, 或 $-\text{OH}$;

R_{15} 为氢, 或 $-\text{OH}$;

R_{22} 为 $-\text{OH}$, $\text{O}(\text{CH}_2)_n\text{CH}_3$, $n=0\sim 3$, 或不存在

R_{23} 为氢, 或 $-\text{OH}$;

R_{27} 为 $-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{OH}$, 或 $=\text{CH}_2$;

X 为 O , 或 NH ;

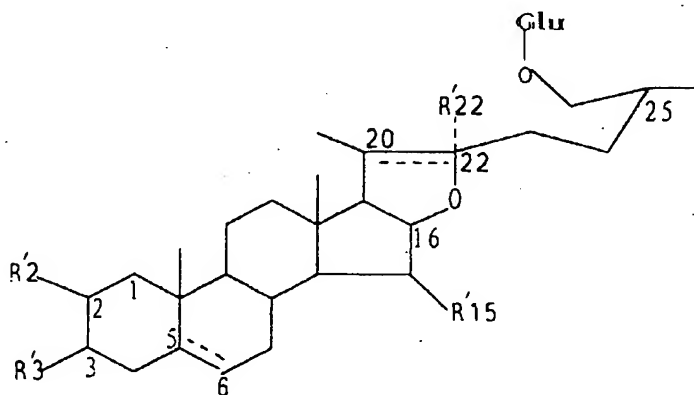
\cdots 表示单键或双键,

Y 为一根直键或不存在,

Z 为 Glu 或不存在.

条件是不包括 $R_1=R_2=R_4=R_6=R_{12}=R_{14}=R_{15}=R_{23}=\text{H}$, $R_3=\beta-\text{OH}$, $R_5=\beta-\text{H}$, $X=\text{O}$, \cdots 为单键, Y 为一直键, R_{22} 不存在, Z 不存在, R_{27} 为 $-\text{CH}_3$, C_{25} 为 S 构型的式 I 化合物.

本发明第二方面涉及的是由通式 (II) 代表的新的甾体皂甙化合物



通式 II

其中

5 - 6 位虚线表示不存在双键, 5 位为 β H

C₂₅ 为 S 构型

R'₁₅ 为氢

R'₂ 为 α - OH 或 β - OH

R'₃ 为 -O-Gal $\xrightarrow{2}$ Glu,

-O-Gal $\xrightarrow{2}$ Glu $\xrightarrow{2}$ Glu,

-O-Gal $\xrightarrow{4}$ Glu $\xrightarrow{2}$ Glu,

-O-Gal $\xrightarrow{4}$ Glu $\xrightarrow{3}$ Glu,

-O-Gal $\xrightarrow{4}$ Glu $\xrightarrow{2}$ Glu $\xrightarrow{3}$ Xyl,

-O-Gal $\xrightarrow{4}$ Glu $\xrightarrow{2}$ Gal $\xrightarrow{3}$ Xyl,

R'₂₂ 为 OH, 或 O(CH₂)_nCH₃, n=0~3, 或 R'₂₂ 不存在同时 20 - 22 位虚线表示存在双键;

或

R'₂ 为氢

R'₃ 为 - O - Gal - Glu,

5 - 6 位虚线表示不存在双键, 5 位为 β H

C₂₅ 为 S 构型

R'₁₅ 为 α - OH 或 β - OH

R'₂₂ 为 OH, 或 O(CH₂)_nCH₃, n=0-3, 或 R'₂₂ 不存在同时 20 - 22 位虚线表示存在双键;

或

R'₂ 为氢

5 - 6 位虚线表示存在双键

R'₁₅ 为氢

C₂₅ 为 R, 或 S 构型

R'₂₂ 为 O(CH₂)_nCH₃, n=0-3, 或 R'₂₂ 不存在同时 20 - 22 位虚线表示存在

双键

R' 为 -O-Gal,

-O-Glu,

-O-Glu $\xrightarrow{2}$ Rha,

-O-Glu $\xrightarrow{3}$ Rha,

-O-Glu $\xrightarrow{4}$ Rha,

-O-Glu $\xrightarrow{4}$ Glu,

-O-Gal $\xrightarrow{4}$ Glu $\xrightarrow{2}$ Xyl
 $\xrightarrow{3}$ Glu,

-O-Gal $\xrightarrow{4}$ Glu,

-O-Glu $\xrightarrow{2}$ Rha

-O-Glu $\xrightarrow{4}$ Glu,

-O-Glu $\xrightarrow{2}$ Rha

-O-Glu $\xrightarrow{4}$ Rha,

-O-Gal $\xrightarrow{2}$ Rha

-O-Gal $\xrightarrow{3}$ Gal,

-O-Glu $\xrightarrow{2}$ Glu

-O-Glu $\xrightarrow{3}$ Glu,

-O-Glu $\xrightarrow{2}$ Rha

或 -O-Glu $\xrightarrow{3}$ Glu.

本发明再一方面涉及的是用于防治老年性痴呆的药物组合物, 其包括作为活性成分的通式 (I) 化合物及与其混合的药用载体。

本发明再一方面涉及通式 (I) 化合物在制备用于防治老年性痴呆药物中的用途。

本发明再一方面涉及防治老年性痴呆的方法, 该方法包括: 将防治有效量的通式 (I) 化合物或含有它的药物组合物给药于需防治的宿主。

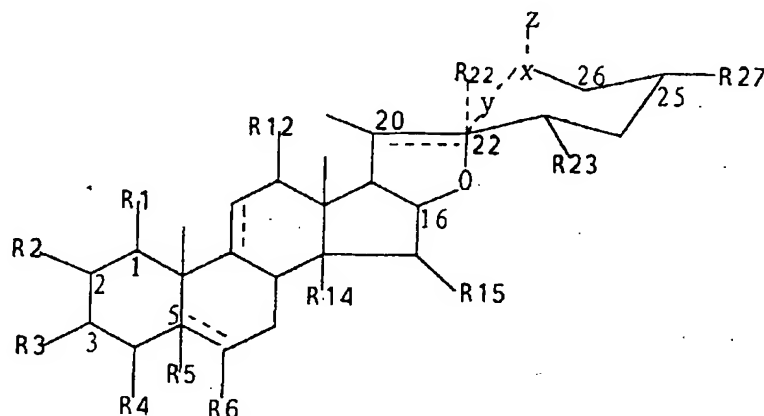
图 1 表示本发明化合物 III 对 KCl 引起的大鼠主动脉收缩的影响。

图 2 表示本发明化合物 III 对大鼠脑血流量的影响。

图 3 表示本发明化合物 III 对 N 受体的影响。

图 4 表示本发明化合物 III 对 N 受体的影响。

根据本发明，本发明首先涉及通式 (I) 化合物及其立体异构体用于防治老年性痴呆，



通式 I

其中

R_1 为氢, $-OH$, $-O-\beta\text{-xyl}$, $-O\text{-Ara-Rha}$, $-O\text{-Fuc-Rha}$, $-O\text{-Ara-Rha}$,

$-O\text{-Fuc-Glu}$, $-O\text{-Fuc-xyl}$, $-O\text{-Ara-Rha}$, $O\text{-Ara-Rha}$, 或
 Ac

$-O\text{-Ara-Rha}$
 Ac Rha ;

R_2 为氢, $-OH$, $-O\text{-Fuc}$, $-O\text{-Rha}$, 或 $-O\text{-Glu}$;

R_3 为 $-OH$, $-OCOCH_3$, $-OCOC_4H_9$ 或氧代 ($=O$), 或

$-O\text{-Gal}$,

$-O\text{-Glu}$,

$-O\text{-Gal-Glu}$,

$-O\text{-Glu-Glu}$,

$-O\text{-Glu-Ara}$,

$-O\text{-Fuc-Glu}$,

$-O\text{-Rha}$,

-O-Rha-Glu,
 -O-Glu-Glu-Glu,

$\begin{array}{c} \text{Glu} \\ \diagup \\ -O-Glu-Rha \\ \diagdown \\ \text{Glu} \end{array}$

-O-Glu-Rha,
 -O-Man-Glu,
 -O-Gal-Glu-Glu,

$\begin{array}{c} \text{Rha} \\ \diagup \\ -O-Glu - Glu, \end{array}$

$\begin{array}{c} \text{Rha} \\ \diagup \\ -O-Glu - Rha, \end{array}$

$\begin{array}{c} \text{Glu} \\ \diagup \\ -O-Glu - Glu, \end{array}$

$\begin{array}{c} \text{Rha} \\ \diagup \\ -O-Gal - Gal, \end{array}$

$\begin{array}{c} \text{xyl} \\ \diagup \\ -O-Glu - Ara, \end{array}$

$\begin{array}{c} \text{Rha} \\ \diagup \\ -O-Gal - Glu, \end{array}$

$\begin{array}{c} \text{Rha} \\ \diagup \\ -O-xyl - Rha, \end{array}$

$\begin{array}{c} \text{Glu} \\ \diagup \\ -O-Glu - Ara, \end{array}$

$\begin{array}{c} \text{Rha} \\ \diagup \\ -O-Glu - xyl, \end{array}$

$\begin{array}{c} \text{Rha} \\ \diagup \\ -O-Gal - xyl, \end{array}$

09.25
-O-Gal-Glu - xyl,
Glu

-O-Gal-Glu - xyl,
Gal

-O-Gal-Glu - Glu,
Glu

-O-Gal-Glu - Glu,
xyl-Rha

O-Gal-Glu - Glu,
xyl-xyl

O-Gal-Glu - Glu-Rha,
Glu

O-Gal-Glu - Glu,
Glu-Ac

-O-Gal-Glu - Glu,
Glu
Ac

-O-Gal-Glu - xyl-Glu,
Glu

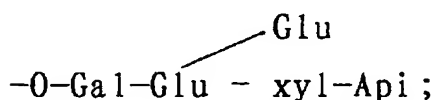
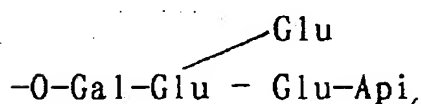
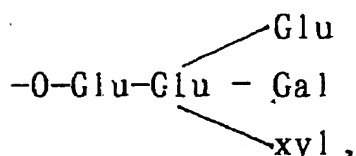
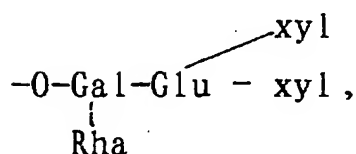
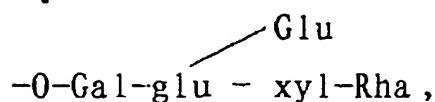
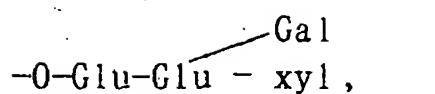
-O-Gal-Glu - Glu-xyl,
Glu-Rha

-O-Gal-Glu - xyl-Glu,
Glu-Glu

-O-Gal-Glu-Gal,

-O-Glu - Rha,
Api

-O-Gal - Glu-Glu,
Rha



R_4 为氢, $-\text{OH}$, 或 $-\text{OSO}_3\text{Na}$,

R_5 为氢, 羟基, $-\text{O}-\text{Glu}$, 或不存在

R_6 为氢, OH , 氧代($=\text{O}$), $-\text{O}-\text{Qui}-\text{Rha}$, 或 $-\text{O}-\text{Qui}-\text{xyl}$;

R_{12} 为氢, $-\text{OH}$, 或氧代($=\text{O}$);

R_{14} 为氢, 或 $-\text{OH}$;

R_{15} 为氢, 或 $-\text{OH}$;

R_{22} 为 $-\text{OH}$, 或 $\text{O}(\text{CH}_2)_n\text{CH}_3$, $n=0-3$, 或不存在;

R_{23} 为氢或 $-\text{OH}$;

R_{27} 为 $-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{OH}$, 或 $=\text{CH}_2$;

X 为 O 或 NH ;

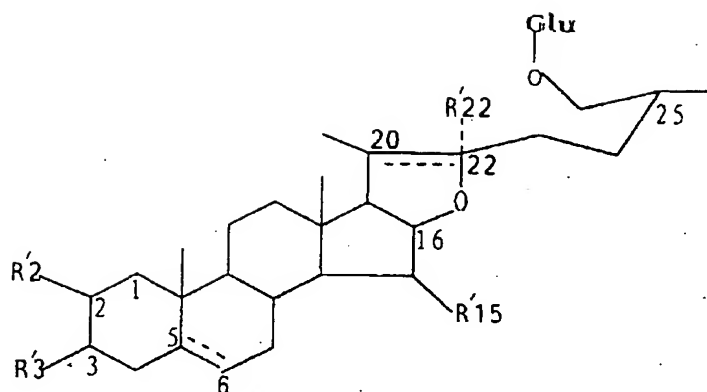
Y 为一根直键或不存在,

Z 为 Glu 或不存在;

\cdots 表示单键或双键;

条件为不包括 $R_1=R_2=R_4=R_6=R_{12}=R_{14}=R_{15}=R_{23}=\text{H}$, R_3 为 $\beta\text{-OH}$, R_5 为 $\beta\text{-H}$, $X=\text{O}$, Y 为一直键, R_{22} 不存在, Z 不存在, R_{27} 为 $-\text{CH}_3$, \cdots 为单键, C_{25} 为 S 构型的式 I 化合物。

根据本发明, 本发明再一方面涉及的是通式 (II) 化合物



通式 II

其中

5 - 6 位虚线表示不存在双键, 5 位为 β H

C₂₅ 为 S 构型

R'₁₅ 为氢

R'₂ 为 α - OH 或 β - OH

R'₃ 为 -O-Gal $\xrightarrow{2}$ Glu,

R'₃ 为 -O-Gal $\xrightarrow{2}$ Glu $\xrightarrow{2}$ Glu,

-O-Gal $\xrightarrow{4}$ Glu $\xrightarrow{2}$ Glu,

-O-Gal $\xrightarrow{4}$ Glu $\xrightarrow{3}$ Glu,

-O-Gal $\xrightarrow{4}$ Glu $\xrightarrow{2}$ Glu

-O-Gal $\xrightarrow{4}$ Glu $\xrightarrow{3}$ Xyl,

-O-Gal $\xrightarrow{4}$ Glu $\xrightarrow{2}$ Gal

-O-Gal $\xrightarrow{4}$ Glu $\xrightarrow{3}$ Xyl.

R'₂₂ 为 OH, 或 O(CH₂)_nCH₃, n=0~3, 或 R'₂₂ 不存在同时 20 - 22 位虚线表示存在双键;

或

R'₂ 为氢

R'₃ 为 -O-Gal - Glu

5 - 6 位虚线表示不存在双键, 5 位为 β H

C₂₅ 为 S 构型

R'_{15} 为 $\alpha - OH$ 或 $\beta - OH$

R'_{22} 为 OH , 或 $O(CH_2)_nCH_3$, $n=0-3$, 或 R'_{22} 不存在同时 20 - 22 位虚线表示存在双键;

或

R'_2 为氢

5 - 6 位虚线表示存在双键

R'_{15} 为氢

C_{25} 为 R, 或 S 构型

R'_{22} 为 $O(CH_2)_nCH_3$, $n=0-3$, 或 R'_{22} 不存在同时 20 - 22 位虚线表示存在双键

R'_3 为 $-O-Gal$,

$-O-Glu$,

$-O-Glu \xrightarrow{2} Rha$,

$-O-Glu \xrightarrow{3} Rha$,

$-O-Glu \xrightarrow{4} Rha$,

$-O-Glu \xrightarrow{4} Glu$,

$-O-Gal \xrightarrow{4} Glu \xrightarrow{2} Xyl$,
 $-O-Gal \xrightarrow{4} Glu$,

$-O-Gal \xrightarrow{4} Glu$,

$-O-Glu \xrightarrow{2} Rha$
 $-O-Glu \xrightarrow{4} Glu$,

$-O-Glu \xrightarrow{2} Rha$
 $-O-Glu \xrightarrow{4} Rha$,

$-O-Gal \xrightarrow{2} Rha$
 $-O-Gal \xrightarrow{3} Gal$,

$-O-Glu \xrightarrow{2} Glu$
 $-O-Glu \xrightarrow{3} Glu$,

$-O-Glu \xrightarrow{2} Rha$
 $-O-Glu \xrightarrow{3} Glu$.

应理解, 通式 (I) 和 (II) 化合物中存在着手性碳原子, 由此产

生的通式 (I) 和 (II) 化合物的立体异构体也包括在本发明通式 (I) 化合物范围内。

在通式 (I) 和 (II) 中, 出现的缩写如下定义:

Glu: 葡萄糖 (glucose)

Gal: 半乳糖 (galactose)

Rha: 鼠李糖 (rhamnose)

Xyl: 木糖 (xylose)

Ara: 阿拉伯糖 (arabinose)

Fuc: 夫糖 (fucose)

Man: 甘露糖 (mannose)

Qui: 鸡纳糖 (quinovose)

Api: 芹糖 (apiose)

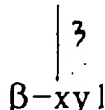
根据本发明, 优选式 (I) 化合物为其中 $R_1=R_2=R_4=R_6=R_{12}=R_{14}=R_{15}=R_{23}=H$, R_3 为 $-O-\beta-Gal^2-\beta-Glu$, $R_5=\beta-H$, $R_{27}=-CH_3$, C_{25} 为 S 构型, X 为 O, Z 为 $-\beta-Glu$, Y 不存在, R_{22} 不存在, $C_{20}-C_{22}$ 位... 为一个双键, 其它... 为单键的化合物。

根据本发明, 优选式 (I) 化合物为其中 $R_1=R_2=R_4=R_6=R_{12}=R_{14}=R_{15}=R_{23}=H$, R_3 为 $-O-\beta-Glu^2-\beta-Glu$, $R_5=\beta-H$, $R_{27}=-CH_3$, C_{25} 为 S 构型, X 为 O, Z 为 $-\beta-Glu$, Y 不存在, R_{22} 不存在, $C_{20}-C_{22}$ 位... 为一个双键, 其它... 为单键的化合物。

根据本发明, 优选式 (I) 化合物为其中 $R_1=R_2=R_4=R_6=R_{12}=R_{14}=R_{15}=R_{23}=H$, R_{22} 为 OH, R_3 为 $-O-\beta-Gal^2-\beta-Glu$, $R_5=\beta-H$, C_{25} 为 S 构型, $R_{27}=-CH_3$, X 为 O, Z 为 $-\beta-Glu$, Y 不存在, ... 为单键化合物。

根据本发明, 优选式 (I) 化合物为其中 $R_1=R_2=R_4=R_6=R_{12}=R_{14}=R_{15}=R_{23}=H$, R_{22} 为 $-OCH_3$, R_3 为 $-O-\beta-Gal^2-\beta-Glu$, $R_5=\beta-H$, C_{25} 为 S 构型, $R_{27}=-CH_3$, X 为 O, Z 为 $-\beta-Glu$, Y 不存在, ... 为单键的化合物。

根据本发明, 优选式 (I) 化合物为其中 $R_1=R_2=R_4=R_6=R_{12}=R_{14}=R_{15}=R_{23}=H$, R_3 为 $-O-\beta-Gal^4-\beta-Glu^2-\beta-Glu$, $R_5=\alpha-H$, R_{22} 不存在, $R_{27}=-CH_3$, X=O, Y 为一根直



键, Z 不存在, \cdots 皆为单键, C-25 位为 R 构型的化合物。

根据本发明, 优选式 (I) 化合物为其中 $R_1=R_2=R_4=R_6=R_{12}=R_{14}=R_{15}=R_{23}=H$, R_3 为 $-O-\beta-Gal^4-\beta-Glu^2-\beta-Glu$, $R_5=\alpha-H$, R_{22} 不存在, $R_{27}=-CH_3$, $X=O$, Y 为 $\beta-xyl$

一根直键, Z 不存在, \cdots 皆为单键, C-25 位为 S 构型的化合物。

根据本发明 (I) 化合物为其中 $R_1=R_4=R_6=R_{12}=R_{14}=R_{15}=R_{23}=H$, $R_2=-\alpha-OH$, R_3 为 $-O-\beta-Gal^4-\beta-Glu^2-\beta-Glu$, $R_5=\alpha-H$, R_{22} 不存在, $R_{27}=-CH_3$, $X=O$, Y 为 $\beta-xyl$

一根直键, \cdots 皆为单键, Z 不存在, C-25 位为 R 构型的化合物。

根据本发明, 优选式 (I) 化合物为其中 $R_1=R_4=R_6=R_{12}=R_{14}=R_{15}=R_{23}=H$, $R_2=\alpha-OH$, R_3 为 $-O-\beta-Gal^4-\beta-Glu^2-\beta-Glu$, $R_5=\alpha-H$, R_{22} 不存在, $R_{27}=-CH_3$, $X=O$, Y 为 $\beta-xyl$

X=O, Y 为一根直键, \cdots 皆为单键, Z 不存在, C-25 位为 S 构型化合物。

根据本发明, 优选式 (I) 化合物为其中 $R_1=R_2=R_4=R_6=R_{12}=R_{14}=R_{15}=R_{23}=H$, R_3 为 $-O-\beta-Gal^4-\beta-Glu^2-\beta-Glu$, R_{22} 不存在, $R_{27}=-CH_3$, $X=O$, Y 为一根直键, $\beta-xyl$

键, Z 不存在, C-25 位为 R 构型, R_5 不存在, C_{5-6} 位 \cdots 为一个双键, 其它 \cdots 为单键的化合物。

根据本发明, 优选式 (I) 化合物为其中 $R_1=R_2=R_4=R_6=R_{12}=R_{14}=R_{15}=R_{23}=H$, R_5 不存在, R_{22} 不存在, $R_{27}=-CH_3$, R_3 为 $-O-\beta-Gal-\beta-Glu^2-\beta-Glu$, $X=O$, Y 为 $\beta-xyl$

一根直键, Z 不存在, C-25 位为 S 构型, C_{5-6} 位 \cdots 为一个双键, 其它 \cdots 为单键的化合物。

根据本发明, 优选式 (I) 化合物为其中 $R_1=R_4=R_6=R_{12}=R_{14}=R_{15}=R_{23}=H$, $R_2=-\alpha-OH$, R_3 为 $-O-\beta-Gal^4-\beta-Glu^2-\beta-Glu$, R_{22} 不存在, $R_{27}=-CH_3$, $X=O$, Y 为 $\beta-xyl$

为一根直键, Z 不存在, C-25 位为 R 构型, R_5 不存在, C_{5-6} 位 \cdots 为一个双键, 其它 \cdots 为单键的化合物。

根据本发明, 优选式 (I) 化合物为其中 $R_1=R_4=R_6=R_{12}=R_{14}=R_{15}=R_{23}=H$, $R_2=\alpha-OH$, R_3 为 $-O-\beta-Gal-\beta-Glu^2-\beta-Glu$, R_{22} 不存在, $R_{27}=-CH_3$, $X=O$, Y 为一根 $\beta-xyl$

直键, Z 不存在, C-25 位为 S 构型, R₅ 不存在, C₅₋₆ 位... 为一个双键, 其它... 为单键的化合物。

根据本发明, 具体优选如下的通式 (I) 化合物:

(25S)-26-0-β-D-吡喃葡萄糖基-22-羟基-5β-呋甾-3β、26-二醇-3-0-β-D-吡喃葡萄糖基(1→2)-β-D-吡喃半乳糖甙;

(25S)-26-0-β-D-吡喃葡萄糖基-22-羟基-5β-呋甾-2β、3β、26-三醇-3-0-β-D-吡喃葡萄糖基(1→2)-β-D-吡喃半乳糖甙;

(25R)-26-0-β-D-吡喃葡萄糖基-22-羟基-5-烯-呋甾-3β、26-二醇-3-0-α-L-吡喃鼠李糖基(1→2)[β-D-葡萄糖吡喃糖基(1→3)]-β-D-吡喃葡萄糖甙;

(25R)-26-0-β-D-吡喃葡萄糖基-22-羟基-5-烯-呋甾-3β、26-二醇-3-0-α-L-吡喃鼠李糖基(1→2)[α-L-吡喃鼠李糖基(1→4)]-β-D-吡喃葡萄糖甙;

(25R)-26-0-β-D-吡喃葡萄糖基-22-羟基-5-烯-呋甾-3β、26-二醇-3-0-β-D-吡喃半乳糖基(1→2)[β-D-吡喃半乳糖基(1→3)]-β-D-吡喃葡萄糖甙;

(25R)-26-0-β-D-吡喃葡萄糖基-22-羟基-5-烯-呋甾-3β、26-二醇-3-0-α-L-吡喃鼠李糖基(1→2)-β-D-吡喃葡萄糖甙;

(25S)-26-0-β-D-吡喃葡萄糖基-5β-呋甾-20(22)-烯-3β、26-二醇-3-0-β-D-吡喃葡萄糖基(1→2)-β-D-吡喃半乳糖甙;

根据本发明, 具体优选如下的通式 (II) 化合物:

(25S)-26-0-β-D-吡喃葡萄糖基-22-羟基-5β-呋甾-2β, 3β, 26-三醇-3-0-β-D-吡喃葡萄糖基(1→2)-β-D-吡喃半乳糖甙;

(25S)-26-0-β-D-吡喃葡萄糖基-22-甲氧基-5β-呋甾-2β, 3β, 26-三醇-3-0-β-D-吡喃葡萄糖基(1→2)-β-D-吡喃半乳糖甙;

(25S)-26-0-β-D-吡喃葡萄糖基-5β-呋甾-20(22)-烯-2β, 3β, 26-三醇-3-0-β-D-吡喃葡萄糖基(1→2)-β-D-吡喃半乳糖甙。

(25R)-26-0-β-D-吡喃葡萄糖基-22-羟基-5-烯-呋甾-3β, 26-二醇-3-0-β-D-吡喃葡萄糖基(1→4)-β-D-吡喃半乳糖甙;

(25R)-26-O- β -D-吡喃葡萄糖基-22-甲氧基-5-烯-呋甾-3 β , 26-二醇-3-O- β -D-吡喃葡萄糖基(1 \rightarrow 4)- β -D-吡喃半乳糖甙;

(25R)-26-O- β -D-吡喃葡萄糖基-5-烯-呋甾-20(22)-烯-3 β , 26-二醇-3-O- β -D-吡喃葡萄糖基(1 \rightarrow 4)- β -D-吡喃半乳糖甙。

根据本发明, 本发明还涉及药物组合物, 其包括作为活性成分的通式 (I) 化合物或其立体异构体及与其混合的药用载体。

根据本发明, 本发明还涉及药物组合物, 其包括作为活性成分的通式 (II) 化合物及与其混合的药用载体。

根据本发明, 本发明再一方面涉及通式 (I) 化合物或其立体异构体在制备用于防治老年性痴呆疾病或症状的药物中的用途。

根据本发明, 本发明还涉及防治老年性痴呆疾病或症状的方法, 其包括将治疗有效量的通式 (I) 化合物或其立体异构体给药于需治疗的患者。

本发明中所用术语“老年性痴呆”是指阿耳茨海默病, 血管性痴呆、混合型或其它型痴呆。

本发明的通式 (I) 或通式 (II) 化合物来自于植物, 如知母, 黄山药, 大蒜, 重楼, 玉竹, 麦冬, 番麻等。其可通过从上述植物中提取得到或通过结构修饰得到。

由通式 (I) 化合物制成的常规药物剂型可用作药物。所述药物的制剂用常用的稀释剂 (例如填料、疏松填料、粘合剂、湿润剂、崩解剂, 表面活性剂、润滑剂) 或赋性剂配制。药物制剂可以根据治疗目的从各种给药剂型中进行选择。一般的给药剂型是, 例如片剂、丸剂、粉剂、溶液剂、悬浮剂、乳剂、颗粒剂、胶囊、栓剂、注射用制剂 (例如溶液剂、悬浮剂等) 等。为了将给药单元剂型制成片剂, 可以广泛使用本领域公知的各种载体。关于载体的例子是, 例如赋性剂, 如乳糖、白糖、氯化钠、葡萄糖、尿素、淀粉、碳酸钙、高岭土、结晶纤维素、硅酸等; 粘合剂, 如水、乙醇、丙醇、普通糖浆、葡萄糖溶液、淀粉溶液、明胶溶液、羧甲基纤维素、紫胶、甲基纤维素、磷酸钾、聚乙烯吡咯烷酮等; 崩解剂, 例如干燥淀粉、藻酸钠、琼脂粉、褐藻淀粉、碳酸氢钠、碳酸

钙、聚氧乙烯山梨糖醇酐脂肪酸酯、十二烷基硫酸钠、单硬脂酸甘油酯、淀粉、乳糖等；崩解抑制剂，例如白糖、三硬脂酸甘油酯、可可脂、氢化油等吸收促进剂，例如季铵盐、十二烷基硫酸钠等；湿润剂，例如甘油、淀粉等；吸附剂，例如淀粉、乳糖、高岭土、膨润土、胶体硅羧酸等；润滑剂，例如精细滑石、硬脂酸盐、硼酸粉、聚乙二醇等。还可以将片状制剂进一步制成由常规的片剂包衣所包衣的片，例如糖包衣片、明胶膜包衣片、肠溶包衣片、膜包衣片、或双层片和多层片。为了将给药单元制成丸剂，可以广泛使用本领域公知的各种载体。关于载体的例子是，例如赋性剂，如葡萄糖、乳糖、淀粉、可可脂、氢化植物油、高岭土、滑石等；粘合剂，如粉末状阿拉伯胶、粉末状黄蓍胶、明胶、乙醇等；崩解剂，如褐藻淀粉、琼脂等。为了将给药单元制成栓剂，可以广泛使用本领域公知的各种载体。关于载体的例子是，例如聚乙二醇、可可脂、高级醇、高级醇的酯、明胶、半合成甘油酯等。为了将给药单元制成胶囊，将有效成分通式 (I) 化合物与上述的各种载体混合，并将由此得到的混合物置于硬的明胶胶囊或软胶囊中。为了将给药单元制成注射用制剂，将溶液剂、乳剂和悬浮剂灭菌，这些制剂最好是与血液等渗的，并且还可以使用本领域常用的所有稀释剂，例如，水、乙醇、聚乙二醇、1, 3-丙二醇、乙氧基化的异硬脂醇、多氧化的异硬脂醇、聚氧乙烯山梨糖醇酐脂肪酸酯等。另外，为了制备等渗注射液，可以向注射用制剂中添加适量氯化钠、葡萄糖或甘油，此外，还可以添加常规的溶解添加剂、缓冲剂、局部麻醉剂等。此外，如需要，也可以向药物制剂中添加着色剂、防腐剂、香料、矫味剂、甜味剂或其它材料。

在本发明的药物制剂中，活性成分通式 (I) 化合物的含量并没有特别的限制，可以从大的范围内进行适当地选择。

本发明的药物制剂的给药方法没有限制，可以根据剂型、病人的年龄、性别和其它条件的差异、症状的程度等进行给药。例如，片剂、丸剂、溶液剂、悬浮剂、乳剂、颗粒剂和胶囊进行口服给药。而注射用制剂可以单独地或与常规的输液用溶液（例如葡萄糖或氨基酸溶液）混合进行血管内给药，如需要，可将它们单独地进行肌肉内、皮内、皮下、或腹膜内给药。栓剂进行直肠给药。

本发明的药物制剂的剂量可以根据用途、病人的年龄、性别和其它条件的差异、症状的程度等进行适当的选择。

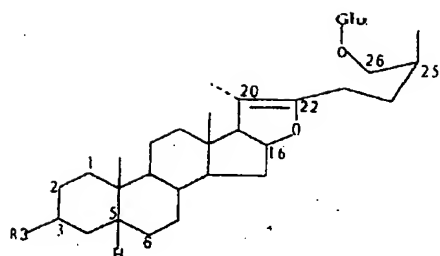
本发明通过下面实施例和药理实验进行进一步详细阐述，但这并不意味着对本发明任何限制。

中药知母为百合科 (Liliaceae) 植物知母 *Anemarrhena asphodeloides* Bge. 的根茎，是临床常用清热泻火、生津润燥中药。我们对知母中的甾体皂甙进行了较系统的提取分离、结构鉴定和活性研究。

实施例 I

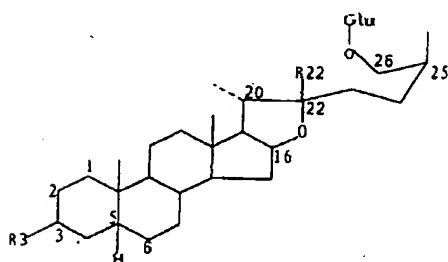
知母 3Kg，以 90 % EtOH 回流提取 3 次，减压回收 EtOH，得浸膏 700g。浸膏加水溶解，过滤，得水溶液和水不溶部分。水溶部分浓缩，n-BuOH 萃取，减压回收 n-BuOH，得浸膏 90g。n-BuOH 萃取物进行硅胶柱层析，以 CHCl_3 - MeOH - H_2O (60: 35: 10 下层) 洗脱，每份 150ml，其中极性较大的流份 54-62 合并，再进行硅胶柱层析，以溶剂系统 CHCl_3 - MeOH - H_2O (60: 30: 10 下层)、 CHCl_3 - MeOH - H_2O (55: 35: 10 下层) 依次洗脱，每份 100ml，合并流份 45-48，除溶剂得 1.2g。经制备型 HPLC 反复分离、纯化，减压蒸除 MeOH，冰冻干燥剩余的水，得化合物 I (28.0mg)、II (11.8mg)、III (57.4mg) 和 IV (20.0mg)。

浸膏的水不溶部分用 MeOH- CHCl_3 (1: 1) 回流，溶液浓缩得干浸膏 38g。此浸膏进行硅胶柱层析，以 CHCl_3 -MeOH- H_2O 溶剂系统洗脱，粗分为 9 个组分，其中组分 4 再进行硅胶柱层析，以 CHCl_3 -MeOH- H_2O (60: 30: 10 下层) 洗脱，TLC 检查相同者合并，得 13 个组分 (Fr. 1 to Fr. 13)。Fr. 7 中析出白色结晶，此结晶用 HPLC (C_{18} 柱，MeOH - H_2O (90: 10)) 分得物质 V (13.0mg) 和 VII (11.5mg)，Fr. 9 中析出的结晶用 HPLC (C_{18} 柱，MeOH- H_2O (80: 20)) 分为物质 VI (10.6mg) 和 VIII (11.7mg)。物质 V、VI、VII、VIII 分别为四对差向异构体的混合物，a 为 25R 异构体系列，b 为 25S 异构体。



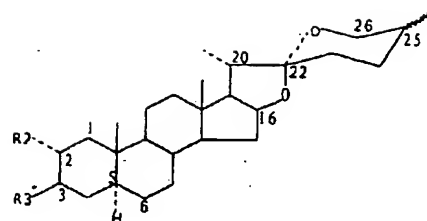
I: $R_3 = O - Gal^1 - Glu$

II: $R_3 = O - Glu^1 - Glu$



III: $R_3 = O - Gal^1 - Glu$, $R_{22} = OH$

IV: $R_3 = O - Gal^1 - Glu$, $R_{22} = OCH_3$

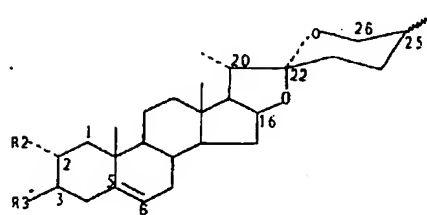


Va: $25R$, $R_2 = H$

Vb: $25S$, $R_2 = H$

V Ia: $25R$, $R_2 = OH$

V Ib: $25S$, $R_2 = OH$



VIa: $25R$, $R_2 = H$

VIb: $25S$, $R_2 = H$

VIIa: $25R$, $R_2 = OH$

VIIb: $25S$, $R_2 = OH$

$R_3 = O - Gal^1 - Glu^1 - Glu$

Xyl

实施例 II

知母 2Kg, 水煮提取 4 次, 提取液减压浓缩为流浸膏, 加乙醇至含醇 75%, 静置沉淀。上清液减压回收乙醇, 再用 $n-BuOH$ 萃取, 减压回收 $n-BuOH$, 得干浸膏 550g。 $n-BuOH$ 萃取物进行反复硅胶柱层析, 以 $CHCl_3 - MeOH - H_2O$ 溶剂系统洗脱, TLC 检查合并含化合物 III 的流份。此流份用 Sephadex LH-20 进行多次纯化, 得化合物 III 7.1g。

二. 结构鉴定:

化合物 I 白色无定形粉末, $mp > 226^\circ C$ (dec)。 Liebermann-Burchard 反应和 Molish 反应呈阳性, 对 Ehrlich 试剂亦呈阳性反应。 IR (漫反射) cm^{-1} : 3368 (OH), 2925, 1692 (Δ 20, 22), 1075, 1039 (醚键 C-O)。 ^1H-NMR ($C_5 D_5 N$) δ : 0.66 (3H, S, 18- CH_3), 0.96 (3H, S,

19-CH₃), 1.01(3H, d, J=6.8Hz, 27-CH₃), 1.60(3H, s, 21-CH₃), 4.82(1H, d, J=7.8Hz, Glc 1-H), 4.92(1H, d, J=7.8Hz, Gal 1-H), 5.27(1H, d, J=7.8Hz, Glc 1-H), 2.46(1H, d, J=10.3Hz, 17-H). ¹³C-NMR 谱数据见表 1。化合物 I 为 (25S)-26-O-β-D-葡萄糖吡喃糖基-5 β-呋甾-20(22)-烯-3 β、26-二醇-3-O-β-D-葡萄糖吡喃糖基(1 → 2)-β-D-吡喃半乳糖甙(知母皂甙 B)。

化合物 II 白色无定形粉末, mp>212 °C (dec)。Liebermann-Burchard 反应和 Molish 反应呈阳性, 对 Ehrlich 试剂亦呈阳性反应。元素分析: C₄₅H₇₄O₁₈ · 2.5H₂O, 计算值(%): C 57.02, H 8.34; 实验值(%): C 56.90, H 8.03。IR(漫反射)cm⁻¹: 3354(OH), 2929, 2850, 1691(Δ 20, 22), 1075, 1037(甙键 C-O)。FAB-MS m/z 925(M+Na)⁺, 903(M+H)⁺, 741(M+H-Glc)⁺, 579(M+H-Glc × 2)⁺, 417(M+H-Glc × 3)⁺, 399(甙元+H-H₂O)⁺, 255, 185, 145。EI-MS m/z 416(甙元)⁺, 398(甙元-H₂O)⁺, 344, 343, 325, 287, 273, 255, 217, 201, 181(基峰), 163, 139, 109, 95。¹H-NMR(C₅D₅N+D₂O) δ: 0.71(3H, s, 18-CH₃), 1.01(3H, s, 19-CH₃), 1.08(3H, d, J=6.8Hz, 27-CH₃), 1.68(3H, s, 21-CH₃), 2.54(1H, d, J=10.3Hz, 17-H), 4.86(1H, d, J=7.8Hz, Glc 1-H), 4.99(1H, d, J=7.3Hz, Glc 1-H), 5.49(1H, d, J=7.3Hz, Glc 1-H)。¹³C-NMR 谱数据见表 1。化合物 II 为 (25S)-26-O-β-D-葡萄糖吡喃糖基-5 β-呋甾-20(22)-烯-3 β、26-二醇-3-O-β-D-葡萄糖吡喃糖基(1 → 2)-β-D-葡萄糖吡喃糖甙(知母皂甙 C)。

化合物 III 白色无定形粉末, mp>243 °C (dec)。Liebermann-Burchard 反应和 Molish 反应呈阳性, 对 Ehrlich 试剂亦呈阳性反应。IR(漫反射)cm⁻¹: 3348(OH), 2930, 2850, 1075, 1044(甙键 C-O)。FAB-MS m/z 943(M+Na)⁺, 903(M+H-H₂O)⁺, 741(M+H-H₂O-Glc)⁺, 579(M+H-H₂O-Glc × 2)⁺, 417(M+H-H₂O-Glc × 2-Gal)⁺, 399(甙元+H-H₂O × 2)⁺, 255, 185, 145。EI-MS m/z 740(M-H₂O-Glc)⁺, 578(M-H₂O-Glc × 2)⁺, 416(甙元-H₂O)⁺, 415(甙元-H-H₂O)⁺, 357, 273, 217, 181, 139。¹H-NMR(C₅D₅N) δ: 0.85(3H, s, 18-CH₃), 0.96(3H, s, 19-CH₃), 1.00(3H, d, J=6.4Hz, 27-CH₃), 1.30(3H, d, J=6.8Hz, 21-CH₃), 4.79(1H, d,

$J=7.8\text{Hz}$, Glc 1-H), 4.90 (1H, d, $J=7.8\text{Hz}$, Gal 1-H), 5.27 (1H, d, $J=7.8\text{Hz}$, Glc 1-H). $^{13}\text{C-NMR}$ 谱数据见表 1。化合物 III 为 (25S)-26-O- β -D-葡萄糖吡喃糖基-22-羟基-5 β -呋甾-3 β 、26-二醇-3-O- β -D-葡萄糖吡喃糖基(1 \rightarrow 2)- β -D-半乳吡喃糖甙 (prototimosaponin AIII)。

化合物 IV 白色无定形粉末, mp 244 $^{\circ}\text{C}$ 。Liebermann-Burchard 反应和 Molish 反应呈阳性, 对 Ehrlich 试剂亦呈阳性反应。FAB-MS m/z 957 ($\text{M}+\text{Na}$) $^{+}$, 933 ($\text{M}-\text{H}$) $^{+}$, 903 ($\text{M}+\text{H}-\text{MeOH}$) $^{+}$, 741 ($\text{M}+\text{H}-\text{MeOH}-\text{Glc}$) $^{+}$, 579 ($\text{M}+\text{H}-\text{MeOH}-\text{Glc} \times 2$) $^{+}$, 417 ($\text{M}+\text{H}-\text{MeOH}-\text{Glc} \times 2-\text{Gal}$) $^{+}$, 399 (甙元 + $\text{H}-\text{MeOH}-\text{H}_2\text{O}$) $^{+}$ 。 $^1\text{H-NMR}$ ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 0.78 (3H, s, 18- CH_3), 0.95 (3H, s, 19- CH_3), 1.03 (3H, d, $J=6.0\text{Hz}$, 27- CH_3), 1.16 (3H, d, $J=6.6\text{Hz}$, 21- CH_3), 3.25 (3H, s, 22- OCH_3), 4.82 (1H, d, $J=7.7\text{Hz}$, Glc 1-H), 4.90 (1H, d, $J=7.1\text{Hz}$, Gal 1-H), 5.27 (1H, d, $J=7.7\text{Hz}$, Glc 1-H). $^{13}\text{C-NMR}$ 谱数据见表 1。化合物 IV 为 (25S)-26-O- β -D-葡萄糖吡喃糖基-22-甲氧基-5 β -呋甾-3 β 、26-二醇-3-O- β -D-葡萄糖吡喃糖基(1 \rightarrow 2)- β -D-半乳吡喃糖甙 (知母皂甙 E)。

物质 V 白色无定形粉末, mp 271 $^{\circ}\text{C}$ (dec)。Liebermann-Burchard 反应和 Molish 反应呈阳性, 对 Ehrlich 试剂呈阴性反应。IR ν_{max} , cm^{-1} : 3394, 2930, 1070, 988, 919, 896, 847. FAB-MS (positive) m/z 1057 ($\text{M}+\text{Na}$) $^{+}$, 1035 ($\text{M}+\text{H}$) $^{+}$, 925 ($\text{M}-\text{Xyl}+\text{Na}$) $^{+}$, 901 ($\text{M}-\text{Xyl}-\text{H}$) $^{+}$, 873 ($\text{M}-\text{Glc}+\text{H}$) $^{+}$, 741 ($\text{M}-\text{Glc}-\text{Xyl}+\text{H}$) $^{+}$, 579 ($\text{M}-\text{Xyl}-\text{Glc} \times 2+\text{H}$) $^{+}$, 417 (aglycone+ H) $^{+}$, 399 (aglycone- $\text{H}_2\text{O}+\text{H}$) $^{+}$. EI-MS m/z 416 (aglycone) $^{+}$, 398 (aglycone- H_2O) $^{+}$, 357, 347, 344, 302, 287, 273, 181, 139.

Va: $^1\text{H-NMR}$ ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 0.80 (s, C-18 CH_3), 0.60 (s, C-19 CH_3), 1.12 (d, $J=6.7\text{Hz}$, C-21 CH_3), 0.67 (d, $J=5.5\text{Hz}$, C-27 CH_3), 4.86 (d, $J=7.3\text{Hz}$, Gal 1-H), 5.17 (d, $J=7.9\text{Hz}$, Glc (inner) 1-H), 5.21 (d, $J=7.9\text{Hz}$, Xyl 1-H), 5.55 (d, $J=7.3\text{Hz}$, Glc (terminal) 1-H). $^{13}\text{C-NMR}$ 谱数据见表 2。化合物 Va 为替告皂甙元-3-O- β -D-吡喃葡萄糖基(1 \rightarrow 2) [β -D-吡喃木糖基(1 \rightarrow 3)]- β -D-吡喃葡萄糖基(1 \rightarrow 4)- β -D-吡喃半乳糖甙 (degallactotigonin)。

Vb: $^1\text{H-NMR}$ ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 0.79 (s, C-18 CH_3), 0.60 (s, C-19 CH_3), 1.12 (d, $J=6.7\text{Hz}$, C-21 CH_3), 1.05 (d, $J=7.3\text{Hz}$, C-27 CH_3), 4.86 (d, $J=7.3\text{Hz}$, Gal 1-H), 5.17 (d, $J=7.9\text{Hz}$, Glc(inner) 1-H), 5.21 (d, $J=7.9\text{Hz}$, Xyl 1-H), 5.55 (d, $J=7.3\text{Hz}$, Glc(terminal) 1-H). $^{13}\text{C-NMR}$ 谱数据见表 2。化合物 Vb 为新替告皂甙元-3-0- β -D-吡喃葡萄糖基(1 \rightarrow 2)[β -D-吡喃木糖基(1 \rightarrow 3)]- β -D-吡喃葡萄糖基(1 \rightarrow 4)- β -D-吡喃半乳糖甙(diuranthoside A)。

物质 VI 白色无定形粉末, mp 247 $^{\circ}\text{C}$ (dec)。Liebermann-Burchard 反应和 Molish 反应呈阳性, 对 Ehrlich 试剂呈阴性反应。IR $_{\text{max}}$ cm^{-1} : 3408, 2931, 2875, 1072, 987, 922, 897, 847. FAB-MS (positive) m/z 1073 ($\text{M}+\text{Na}$) $^+$, 1051 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$, 595 ($\text{M}-\text{Xyl}-\text{Glc} \times 2+\text{H}$) $^+$, 433 (aglycone+ H) $^+$, 415 (aglycone - $\text{H}_2\text{O}+\text{H}$) $^+$. EI-MS m/z 432 (aglycone) $^+$, 415 (aglycone- $\text{H}_2\text{O}+\text{H}$) $^+$, 414 (aglycone- H_2O) $^+$, 373, 363, 360, 342, 318, 303, 300, 289, 271, 139, 126, 115.

VIa: $^1\text{H-NMR}$ ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 0.78 (s, C-18 CH_3), 0.67 (s, C-19 CH_3), 1.10 (d, $J=6.6\text{Hz}$, C-21 CH_3), 0.67 (C-27 CH_3), 4.90 (d, $J=7.7\text{Hz}$, Gal 1-H), 5.20 (d, $J=7.7\text{Hz}$, Glc(inner) 1-H), 5.23 (d, $J=7.7\text{Hz}$, Xyl 1-H), 5.57 (d, $J=7.7\text{Hz}$, Glc(terminal) 1-H). $^{13}\text{C-NMR}$ 谱数据见表 2。化合物 VI a 为支脱皂甙元-3-0- β -D-吡喃葡萄糖基(1 \rightarrow 2)[β -D-吡喃木糖基(1 \rightarrow 3)]- β -D-吡喃葡萄糖基(1 \rightarrow 4)- β -D-吡喃半乳糖基(F-gitonin)。

VIb: $^1\text{H-NMR}$ ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 0.77 (s, C-18 CH_3), 0.67 (s, C-19 CH_3), 1.10 (d, $J=6.6\text{Hz}$, C-21 CH_3), 1.05 (d, $J=7.1\text{Hz}$, C-27 CH_3), 4.90 (d, $J=7.7\text{Hz}$, Gal 1-H), 5.20 (d, $J=7.7\text{Hz}$, Glc(inner) 1-H), 5.23 (d, $J=7.7\text{Hz}$, Xyl 1-H), 5.57 (d, $J=7.7\text{Hz}$, Glc(terminal) 1-H). $^{13}\text{C-NMR}$ 谱数据见表 2。化合物 VI b 为新支脱皂甙元-3-0- β -D-吡喃葡萄糖基(1 \rightarrow 2)[β -D-吡喃木糖基(1 \rightarrow 3)]- β -D-吡喃葡萄糖基(1 \rightarrow 4)- β -D-吡喃半乳糖甙(知母皂甙 F)。

物质 VII 白色无定形粉末, mp 242 $^{\circ}\text{C}$ 。Liebermann-Burchard 反应

和 Molish 反应呈阳性, 对 Ehrlich 试剂呈阴性反应。IR ν_{\max} cm^{-1} : 3394, 2934, 1069, 985, 919, 896, 847. FAB-MS (positive) m/z 1055 ($\text{M}+\text{Na}$)⁺, 1033 ($\text{M}+\text{H}$)⁺, 737 ($\text{M}-\text{Glc}-\text{Xyl}-\text{H}$)⁺, 577 ($\text{M}-\text{Xyl}-\text{Glc} \times 2+\text{H}$)⁺, 415 ($\text{aglycone}+\text{H}$)⁺, 397 ($\text{aglycone}-\text{H}_2\text{O}+\text{H}$)⁺. EI-MS m/z 414 (aglycone)⁺, 396 ($\text{aglycone}-\text{H}_2\text{O}$)⁺, 355, 345, 342, 300, 282, 271, 139.

VIIa: ¹H-NMR ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 0.79 (s, C-18 CH_3), 0.85 (s, C-19 CH_3), 1.13 (d, $J=6.7\text{Hz}$, C-21 CH_3), 0.67 (d, $J=5.5\text{Hz}$, C-27 CH_3), 4.87 (d, $J=7.4\text{Hz}$, Gal 1-H), 5.16 (d, $J=7.9\text{Hz}$, Glc (inner) 1-H), 5.22 (d, Xyl 1-H), 5.55 (d, $J=7.9\text{Hz}$, Glc (terminal) 1-H). ¹³C-NMR 谱数据见表 2. 化合物 VII a 为薯蓣皂甙元-3- β -D-吡喃葡萄糖基(1 \rightarrow 2)[β -D-吡喃木糖基(1 \rightarrow 3)]- β -D-吡喃葡萄糖基(1 \rightarrow 4)- β -D-吡喃半乳糖甙 (aspidistrin).

VIIb: ¹H-NMR ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 0.79 (s, C-18 CH_3), 0.85 (s, C-19 CH_3), 1.13 (d, $J=6.7\text{Hz}$, C-21 CH_3), 1.05 (d, $J=6.7\text{Hz}$, C-27 CH_3), 4.87 (d, $J=7.4\text{Hz}$, Gal 1-H), 5.16 (d, $J=7.9\text{Hz}$, Glc (inner) 1-H), 5.22 (d, Xyl 1-H), 5.55 (d, $J=7.9\text{Hz}$, Glc (terminal) 1-H). ¹³C-NMR 谱数据见表 2. 化合物 VII b 为亚莫皂甙元-3- β -D-吡喃葡萄糖基(1 \rightarrow 2)[β -D-吡喃木糖基(1 \rightarrow 3)]- β -D-吡喃葡萄糖基(1 \rightarrow 4)- β -D-吡喃半乳糖甙 (3- β -lycotetrasoyl yamogenin).

物质 VIII 白色无定形粉末, mp 258 $^{\circ}\text{C}$ (dec). Liebermann-Burchard 反应和 Molish 反应呈阳性, 对 Ehrlich 试剂呈阴性反应。IR ν_{\max} cm^{-1} : 3414, 2940, 2902, 1071, 988, 920, 895, 849. FAB-MS (positive) m/z 1071 ($\text{M}+\text{Na}$)⁺, 1049 ($\text{M}+\text{H}$)⁺, 855 ($\text{M}-\text{Glc}-\text{H}$)⁺, 753 ($\text{M}-\text{Glc}-\text{Xyl}-\text{H}$)⁺, 593 ($\text{M}-\text{Xyl}-\text{Glc} \times 2+\text{H}$)⁺, 431 ($\text{aglycone}+\text{H}$)⁺, 413 ($\text{aglycone} - \text{H}_2\text{O}+\text{H}$)⁺, 395 ($\text{aglycone} - \text{H}_2\text{O} \times 2+\text{H}$)⁺. EI-MS m/z 430 (aglycone)⁺, 413 ($\text{aglycone}-\text{H}_2\text{O}+\text{H}$)⁺, 412 ($\text{aglycone}-\text{H}_2\text{O}$)⁺, 371, 361, 358, 316, 298, 287, 269, 139, 126, 115.

VIIIa: ¹H-NMR ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 0.78 (s, C-18 CH_3), 0.91 (s, C-19 CH_3), 1.11 (d, $J=6.6\text{Hz}$, C-21 CH_3), 0.67 (d, $J=5.5\text{Hz}$, C-27 CH_3), 4.91 (d,

$J=7.7\text{Hz}$, Gal 1-H), 5.20(d, $J=7.7\text{Hz}$, Glc(inner) 1-H), 5.23(d, $J=7.7\text{Hz}$ Xyl 1-H), 5.57(d, $J=7.7\text{Hz}$, Glc(terminal) 1-H). ^{13}C -NMR 谱数据见表 2。化合物 VIII a 为丝兰皂甙元-3-0- β -D-吡喃葡萄糖基(1 \rightarrow 2)[β -D-吡喃木糖基(1 \rightarrow 3)]- β -D-吡喃葡萄糖基(1 \rightarrow 4)- β -D-吡喃半乳糖甙(karatavioside A)。

VIII b : ^1H -NMR ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 0.78(s, C-18 CH_3), 0.91(s, C-19 CH_3), 1.11(d, $J=6.6\text{Hz}$, C-21 CH_3), 1.05(d, $J=7.1\text{Hz}$, C-27 CH_3), 4.91(d, $J=7.7\text{Hz}$, Gal 1-H), 5.20(d, $J=7.7\text{Hz}$, Glc(inner) 1-H), 5.23(d, $J=7.7\text{Hz}$ Xyl 1-H), 5.57(d, $J=7.7\text{Hz}$, Glc(terminal) 1-H). ^{13}C -NMR 谱数据见表 2。化合物 VIII b 为利拉皂甙元-3-0- β -D-吡喃葡萄糖基(1 \rightarrow 2)[β -D-吡喃木糖基(1 \rightarrow 3)]- β -D-吡喃葡萄糖基(1 \rightarrow 4)- β -D-吡喃半乳糖甙(知母皂甙 G)。

表 1. 化合物 I - IV 的 ^{13}C - NMR 化学位移 ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$)

碳	I	II	III	IV
甙元				
1	30.9	30.7	30.9	30.9
2	26.9	26.9	27.0	27.0
3	75.1	75.2	75.0	75.2
4	30.9	30.9	30.9	31.0
5	36.9	36.8	36.9	36.9
6	26.8	26.8	26.7	26.7
7	26.8	26.8	26.7	26.7
8	35.1	35.1	35.4	35.5
9	40.1	40.1	40.2	40.2
10	35.2	35.1	35.2	35.2
11	21.2	21.3	21.1	21.0
12	40.0	40.0	40.4	40.5
13	43.8	43.8	41.2	41.2

14	54.7	54.7	56.4	56.4
15	31.3	31.3	32.4	32.1
16	84.5	84.5	81.2	81.4
17	64.6	64.6	64.0	64.4
18	14.6	14.3	16.7	16.5
19	24.0	24.0	24.0	24.0
20	103.5	103.5	40.6	41.2
21	11.8	11.8	16.4	16.4
22	152.3	152.3	110.6	112.6
23	34.4	34.3	37.1	30.9
24	23.6	23.6	28.3	28.2
25	33.7	33.6	34.4	34.4
26	75.2	75.2	75.3	75.2
27	17.1	17.1	17.4	17.5
OCH3				47.3

半乳糖或葡萄糖 (3 位内側)

1	102.6	101.9	102.5	102.5
2	81.8	83.1	81.8	81.7
3	76.9	78.5	76.9	76.9
4	69.8	71.7	69.8	69.8
5	76.6	78.2	76.5	76.6
6	62.1	62.8	62.1	62.1

葡萄糖 (3 位末端)

1	106.1	105.9	106.1	106.0
2	75.5	77.0	75.5	75.4
3	78.0	77.9	78.0	78.0
4	71.6	71.5	71.6	71.7
5	78.4	78.5	78.4	78.5
6	62.7	62.6	62.7	62.8

葡萄糖 (26 位)

1	105.1	105.1	105.1	105.0
2	75.2	75.2	75.2	75.0
3	78.5	78.5	78.5	78.6
4	71.6	71.6	71.6	71.7
5	78.5	78.2	78.4	78.4
6	62.7	62.8	62.7	62.8

表 2 化合物 V_a-VIII_b 的 ¹³C-NMR 化学位移 (100MHz, in C₅D₅N)

	V _a	V _b	VI _a	VI _b	VII _a	VII _b	VIII _a	VIII _b
戒元								
1	37.1		45.5		37.5		45.7	
2	29.8		70.7		30.1		70.7	
3	77.4		84.2		78.3		84.4	
4	34.8		34.0		39.2		37.6	
5	44.6		44.5		141.0		140.0	
6	28.8		28.0		121.6		121.9	
7	32.3		32.1		32.3		32.1	
8	35.2		34.5		31.8		31.0	
9	54.3		54.3		50.3		50.1	
10	35.7		36.8		37.0		37.9	
11	21.2		21.4		21.1		21.1	
12	40.1		40.0		39.9		39.7	
13	40.7		40.7		40.4		40.4	
14	56.4		56.2		56.6		56.4	
15	32.1		32.1		32.1		32.1	
16	81.1	81.2	81.2		81.1	81.2	81.1	
17	62.9	62.8	62.9		62.9	62.7	62.6	
18	16.5	16.3	16.6	16.4	16.3		16.3	

19	12.2		13.4		19.4		20.4	
20	41.9	42.4	41.9	42.4	42.0	42.5	41.9	42.4
21	15.0	14.8	15.0	14.8	15.0	14.9	15.0	14.9
22	109.2	109.7	109.2	109.7	109.3	109.8	109.2	109.7
23	31.8	26.3	31.7	26.3	31.6	26.4	31.7	26.3
24	29.2	26.1	29.2	26.2	29.3	26.2	29.2	26.1
25	30.5	27.5	30.5	27.5	30.6	27.5	30.5	27.5
26	66.8	65.0	66.8	65.0	66.9	65.1	66.8	65.0
27	17.3	16.2	17.3	16.2	17.3	16.3	17.3	16.3

半乳糖

1	102.4		103.2		102.7		103.3	
2	73.1		72.5		73.1		72.6	
3	75.0		75.1		75.1		75.1	
4	79.8		79.3		79.8		79.2	
5	75.3		75.7		75.3		75.6	
6	60.6		60.6		60.6		60.6	

葡萄糖(内)

1	104.7		104.6		104.8		104.6	
2	81.2		81.1		81.3		81.1	
3	86.7		86.9		86.8		86.9	
4	70.4		70.4		70.4		70.0	
5	78.5		78.1		78.6		78.1	
6	62.4		62.6		63.3		62.8	

葡萄糖(末端)

1	104.8		104.7		104.9		104.7	
2	75.5		75.4		75.5		75.4	
3	78.5		78.4		78.8		78.4	
4	70.7		71.3		70.8		71.3	
5	77.5		78.7		77.6		78.7	
6	63.0		62.9		62.9		62.9	

木糖

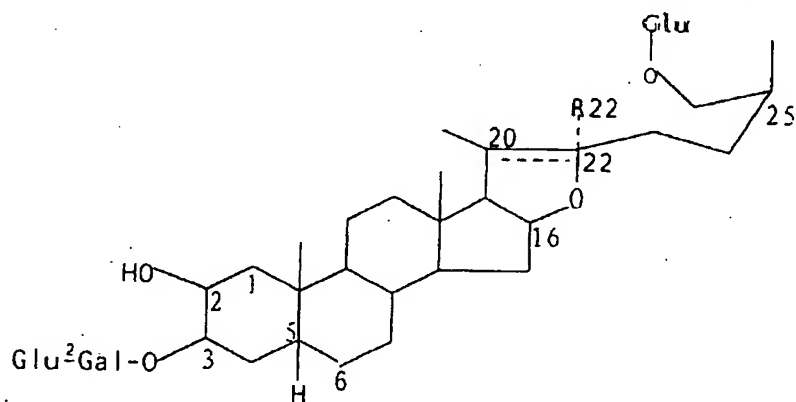
1	105.0	104.9	105.1	104.9
2	76.1	76.0	76.2	76.0
3	77.7	77.5	77.1	77.5
4	71.0	70.4	71.0	70.3
5	67.2	67.3	67.3	67.3

按实施例 I 或 II 的方法, 由植物中得到如下所示的化合物及其光谱。

1* (25S) -26-O-β-D-吡喃葡萄糖基-22-羟基-5β-甾-2β, 3β, 26-三醇-3-O-β-D-吡喃葡萄糖基(1→2)-β-D-吡喃半乳糖甙;

2* (25S) -26-O-β-D-吡喃葡萄糖基-22-甲氧基-5β-甾-2β, 3β, 26-三醇-3-O-β-D-吡喃葡萄糖基(1→2)-β-D-吡喃半乳糖甙;

3* (25S) -26-O-β-D-吡喃葡萄糖基-5β-甾-20(22)-烯-2β, 3β, 26-三醇-3-O-β-D-吡喃葡萄糖基(1→2)-β-D-吡喃半乳糖甙。



化合物 1*: R22 = OH, C₂₀ - C₂₂ 间为单键

化合物 2*: R22 = OCH₃, C₂₀ - C₂₂ 间为单键

化合物 3*: R22 不存在, C₂₀ - C₂₂ 间为双键

¹³C - NMR

碳	1*	2*	3*		1*	2*	3*
1	40.6	40.6	40.6	Gal 1	106.1	106.1	106.1
2	67.2	67.2	67.2	2	75.2	75.1	75.2
3	81.8	81.8	81.8	3	78.1	78.1	78.1
4	31.9	31.9	31.9	4	71.9	71.9	71.8

5	36.6	36.6	36.6		5	78.4	78.5	78.4
6	26.6	26.6	26.6		6	62.9	62.9	62.9
7	26.3	26.3	26.3	Glu	1	103.3	103.3	103.3
8	35.6	35.6	35.6		2	81.7	81.6	81.7
9	41.5	41.5	41.5		3	77.0	77.0	77.0
10	37.1	37.1	37.1		4	69.8	69.9	69.9
11	21.4	21.4	21.5		5	76.9	76.9	76.9
12	40.4	40.4	40.0		6	62.0	62.1	62.0
13	41.3	41.3	43.9	Glu	1	105.1	105.0	105.0
14	56.3	56.3	54.6	(26 位)	2	75.2	75.1	75.2
15	32.4	32.1	31.3		3	78.6	78.6	78.6
16	81.2	81.4	84.5		4	71.8	71.7	71.8
17	64.0	64.4	64.6		5	78.4	78.4	78.4
18	16.7	16.5	14.5		6	62.9	62.8	62.9
19	23.9	24.0	23.9					
20	40.7	41.2	103.5					
21	16.4	16.4	11.8					
22	110.7	112.6	152.3					
23	37.1	30.9	34.4					
24	28.3	28.2	23.6					
25	34.4	34.4	33.6					
26	75.4	75.2	75.2					
27	17.5	17.5	17.1					
OCH ₃		47.3						

FAB-MS:

1⁺ FAB-MS m/z: 919 (M+H-H₂O)⁺, 757 (M+H-H₂O-Glu)⁺, 595 (M+H-H₂O-Glu × 2), 433 (M+H-H₂O-Glu × 2-Gal)⁺, 415 (貳元+H-H₂O × 2)⁺, 271, 255, 145

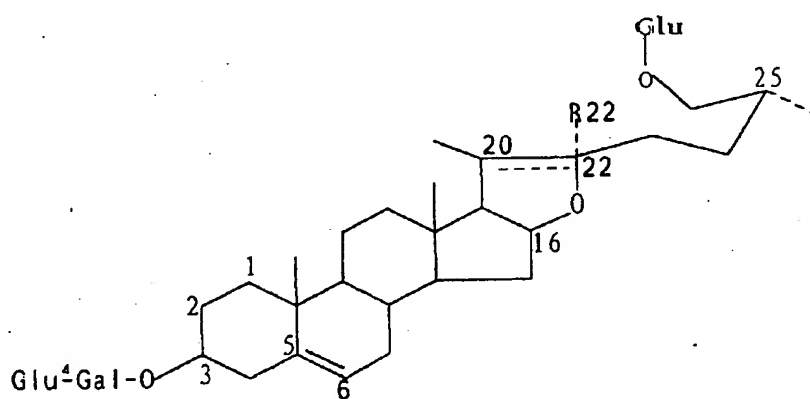
2⁺ FAB-MS m/z: 951 (M+H)⁺, 919 (M+H-MeOH)⁺, 757 (M+H-MeOH-Glu)⁺, 595 (M+H-MeOH-Glu × 2)⁺, 433 (M+H-MeOH-Glu × 2-Gal)⁺, 415 (貳元+H-MeOH-H₂O)

3⁺ FAB-MS m/z: 919 (M+H)⁺, 757 (M+H-Glu)⁺, 595 (M+H-Glu × 2)⁺, 433 (M+H-Glu × 2-Gal)⁺, 415 (甙元+H-H₂O)⁺

1^{''} (25R)-26-O-β-D-吡喃葡萄糖基-22-羟基-5-烯-呋甾-3β, 26-二醇-3-O-β-D-吡喃葡萄糖基(1→4)-β-D-吡喃半乳糖甙;

2^{''} (25R)-26-O-β-D-吡喃葡萄糖基-22-甲氧基-5-烯-呋甾-3β, 26-二醇-3-O-β-D-吡喃葡萄糖基(1→4)-β-D-吡喃半乳糖甙;

3^{''} (25R)-26-O-β-D-吡喃葡萄糖基-5-烯-呋甾-20(22)-烯-3β, 26-二醇-3-O-β-D-吡喃葡萄糖基(1→4)-β-D-吡喃半乳糖甙。



化合物 1^{''}: R22 = OH, C₂₀ - C₂₂间为一单键

化合物 2^{''}: R22 = OCH₃, C₂₀ - C₂₂间为一单键

化合物 3^{''}: R22 不存在, C₂₀ - C₂₂间为一双键

¹³C - NMR

	1 ^{''}	2 ^{''}	3 ^{''}		1 ^{''}	2 ^{''}	3 ^{''}
1	37.6	37.6	37.6	Gal 1	103.0	103.0	103.0
2	30.4	30.4	30.4	2	73.5	73.5	73.4
3	78.4	78.4	78.4	3	75.4	75.4	75.3
4	39.4	39.4	39.4	4	79.8	79.8	79.8
5	141.2	141.2	141.2	5	75.9	75.8	75.9
6	121.6	121.6	121.6	6	61.0	61.0	61.0
7	32.4	32.4	32.4	Glu 1	107.0	107.1	107.0
8	31.9	31.9	31.9	2	75.2	75.2	75.2
9	50.5	50.5	50.5	3	78.4	78.4	78.2
10	37.2	37.2	37.2	4	72.4	72.6	72.4

11	21.3	21.3	21.4	5	78.7	78.7	78.6
12	40.1	40.1	40.0	6	63.1	63.1	63.2
13	40.6	40.6	43.2	Glu (26 位)	104.6	104.9	104.7
				1			
14	56.8	56.8	55.1	2	75.0	75.1	75.1
15	32.4	32.4	31.3	3	78.3	78.6	78.3
16	80.9	81.2	84.2	4	71.6	71.9	71.6
17	63.6	64.2	64.2	5	78.0	78.2	77.9
18	16.5	16.3	14.3	6	62.8	63.1	62.9
19	19.4	19.5	19.4				
20	40.6	40.6	103.2				
21	16.2	16.2	11.6				
22	110.9	112.8	152.1				
23	37.0	30.9	34.3				
24	28.3	28.3	23.5				
25	34.2	34.3	33.4				
26	75.3	75.3	75.2				
27	17.4	17.2	17.1				
OCH ₃		47.4					

药理实验:

老年性痴呆是神经病学中一组原因未明的进行性精神功能衰退性疾病, 其病因较复杂。发明人从多个角度观察了知母皂甙, 其中主要是化合物III, 防治老年性痴呆的活性。

一. 对动物脑循环代谢的影响:

研究开发抗痴呆药物主要应根据其发病机制考虑。针对血管性痴呆, 我们观察了知母皂甙对脑基底动脉的扩张作用及对整体动物脑血流的影响。

1. 知母皂甙的脑基底动脉扩张实验:

实验方法

- (1)、称取化合物I、II、III、IV各1mg, 溶于1ml 生理盐水中, 取 50 μ l 再溶于5ml 生理盐液。
- (2)、用新鲜脑去大脑、小脑, 取基底动脉中段。
- (3)、调节换能器、放大器, 使笔回零。
- (4)、将基底动脉悬挂于换能器上, 浸于浴槽。

实验结果:

- (1)、加入化合物III 50 μ l 后脑基底动脉轻微扩张, 加入血管收缩剂 KCl 后未见血管收缩。
- (2)、在此剂量下化合物I、II、IV未见明显作用。
- (3)、此实验重复两次, 均得同样结果。

以上结果表明, 化合物III 在 10^{-5} g/ml (0.01mM) 浓度下具有一定的脑血管扩张作用, 并拮抗收缩剂引起的脑血管收缩。此剂量比同样实验条件下的阳性药川芎嗪的有效浓度还低两个数量级。

2. 大鼠主动脉扩张实验

实验方法: 大鼠处死, 取胸主动脉, 去除结缔组织、血, 浸入 Krebs-Henseleit 液, 通氧, 挂于换能器上, 测定径向张力。结果见图1。

由图1可见, 化合物III 在 0.04mM 浓度时, 亦可抑制 KCl 引起的大鼠主动脉的收缩。

3. 氢清除法测定对大鼠脑血流量的影响:

在离体实验的基础上, 我们进一步通过整体动物实验, 观察了化合物III对大鼠脑血流量的影响。

1. 方法: 氢清除法。
2. 仪器: LS-III型组织血流仪。
3. 动物: Wister 大鼠, 雄性。

实验方法步骤:

1. 动物用 10 % 水合氯醛麻醉, 分离股总静脉, 插管。
2. 用大鼠颅骨圆形开孔钻在脑皮层顶叶部位打开一颅窗, 放置氢电极。
3. 动物手术完成后与血流仪、计算机连接, 稳定 30min 后给药, 测定, 结果见下表及图 2。

化合物 III (50 μ g/Kg) 对大鼠脑血流量(rCBF) 的影响

时间 (min)	大鼠 1 (ml/mg/ min)	大鼠 2 (ml/mg/ min)	大鼠 3 (ml/mg/ /min)	大鼠 4 (ml/mg/ min)	rCBF 平均值 (ml/mg/min)	rCBF 变化率 (%)
0	114.17	130.86	144.25	135.97	131.3125	0
1	133.30	150.05	139.55	143.35	141.5625	7.805810
10	147.99	143.41	162.10	145.64	149.7850	14.06759
20	158.46	136.33	177.59	121.24	148.4050	13.01666
30	164.61	182.96	171.42	135.00	163.4975	24.51023
40	176.90	202.46	165.94	113.38	164.6700	25.40314
50	176.77	193.57	163.08	131.17	166.1475	26.52832

结论与讨论:

1. 实验结果显示, 化合物 III 能够增加大鼠的脑血流量, 其在 50 μ g/Kg 浓度时, 可使大鼠脑血流量 (rCBF) 增加 26.5 %。此结果说明化合物 III 可改善脑循环代谢, 对老年性痴呆, 尤其是脑血管性痴呆有一定的作用。
2. 皂甙类化合物最大的问题是溶血问题。本实验通过静脉给药, 观察到化合物 III 在此有效浓度下没有溶血作用。

二. 化合物 III 对 N 受体的影响:

最新研究结果表明, 老年性痴呆与 N 受体具有密切关系。80 年代后期以来, 众多的实验几乎一致显示, 阿尔茨海默氏痴呆 (AD) 病人的脑

组织 N 受体较正常人减少约 50 %；痴呆病人脑 N 受体高、低亲和力结合位点比例失调，高亲和力位点相对下降；AD 病人外周 N 受体数目亦降低。烟碱可以增加 N 受体的数量，所以人们开始通过对烟碱的结构改造来寻找作用于 N 受体的抗痴呆药物。由于烟碱类的化合物为 N 受体的激动剂，具有较大的毒副作用，难以作为抗痴呆药物应用。通过 SY - SY5Y 及 M10 两个细胞系，我们观察了化合物 III 对 N 受体的作用。

SY - SY5Y 为人的神经母细胞瘤细胞，它表达天然的 N 和 M 受体，而 M10 细胞则表达重组的鸡 N 受体的 $\alpha 4\beta 2$ 亚型。用一系列不同浓度的化合物 III 分别处理两个细胞系，三天后测定 N 受体的量。结果如图 3、图 4 所示。

SY - SY5Y 及 M10 两个细胞系的实验结果均显示，化合物 III 能有效地增加 N 受体的数量，且有良好的量效关系，其作用强度与烟碱类似。化合物 III 为常用中药知母的主要成分之一，一般认为是低毒的，由此可能找到作用于 N 受体的非烟碱类的抗痴呆药物。

三. 胚胎大鼠海马神经细胞培养实验:

实验方法:

1. 取胚胎大鼠海马神经细胞做原代培养。
2. 将细胞用不同的条件进行培养，每个条件有 3 或 5 个平行孔。
3. MTT 染色，测 OD 值。

实验结果:

化合物 III 对胚胎大鼠海马神经细胞培养的作用

样品 浓度 ($\mu\text{g/ml}$)	化合物 III	
	OD 平均值	细胞增殖率
空白对照	0.0624	0
0.1	0.0773	23.87821
1	0.0663	6.25000

10	0.0860	37.82051
50	0.0807	29.32692
100	0.0750	20.19231
500	0.0903	44.71154
1000	0.0673	7.85256

可见, 化合物 III 对胚胎大鼠海马神经细胞培养有一定促进作用。

四. 知母皂甙的清除自由基作用:

自由基反应, 现被认为是造成中枢神经细胞膜结构及其功能损伤的重要因素, 人们也在开发一些自由基清除剂作为抗痴呆药物。用顺磁方法观察了知母皂甙对自由基的清除作用。

1、材料和方法:

按照 Fenton 反应产生羟自由基($\bullet\text{OH}$): $5 \mu\text{L } 2\text{mM FeSO}_4$ 、 $10 \mu\text{L } 0.8\text{mM DMPD}$ 、加入 $5 \mu\text{L } 50\text{mM EDTA}$, 混合后加入 $5 \mu\text{L H}_2\text{O}_2$, 再加 $25 \mu\text{L}$ 双蒸水或知母皂甙, 混匀后立即装入石英毛细管, 1 分钟后测定。

测量在 ESP 300 型 ESR(自旋共振)波谱仪上完成。条件: 室温, CF(中心磁场) = 3470GS , SW(扫宽) = 200GS MF(调制频率) = 25KHz , MA(调制幅度) = 1GS , CT(时间常数) = 84S , P(功率) = 10mw 。

分别称取化合物 I、II、III、VI、V、VI、VII、VII, 加入双蒸水配制成 10mg/ml 浓度, 分别以 1:1 (V:V) 的比例加入羟自由基体系, 以同样比例的双蒸水作为空白对照, 测定 ESR 波谱信号的幅度。

清除率以下式计算: $E(\%) = (h_0 - h_x) / h_0 \times 100$

h_0 是对照体系 ESR 波谱峰高, h_x 是加药后对应峰的高度。

2、实验结果:

知母皂甙对羟自由基的清除作用

组别	浓度 (mg/ml)	清除率 (%)
对照	0	0.0

I	5	23.3
II	5	40.0
III	5	56.7
IV	5	33.3
V	5	23.3
VI	5	0.0
VII	5	-20.0
VIII	5	0.0

从以上的结果可以看出, 知母皂甙 I、II、III、IV 对羟自由基均有一定清除作用, 其中化合物 III 的作用最强 (5mg/ml 浓度下清除率为 56.7%)。本实验显示: 物质 V、VI、VII、VIII 对 $\bullet\text{OH}$ 无清除作用, 这可能与它们在水中不溶解有关。化合物 III 清除羟自由基的活性, 也提示它对痴呆的防治活性。

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☒ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☒ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.